

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

E. A. P. DE MEDICINA VETERINARIA

**Evaluación de los niveles de protección de una vacuna
intermedia contra la enfermedad de Gumboro en
pollos de postura**

TESIS

para optar el título profesional de Médico Veterinario

AUTORA

Natalia León Rodríguez

Lima-Perú

2008

**Título: “Evaluación de los niveles de protección de una vacuna intermedia
contra la enfermedad de Gumboro en pollas de postura”**

**“Evaluation of the protection conferred by an intermediate vaccine
against Gumboro disease in laying hens”**

A) Nombre de los autores:

Natalia León Rodríguez¹

Eliana Icochea D´Arrigo²

Raúl Rosadio Alcántara³

Nieves Sandoval Chaupe⁴

José Bustamante Laverde⁵

B) Nombre de la Institución: Laboratorio de Patología Aviar. FMV – UNMSM

C) Trabajo derivado de tesis: Tesista Natalia León Rodríguez

¹Tesista. FMV- UNMSM; ² Laboratorio de Patología Aviar. FMV-UNMSM; ³ Unidad de Virología y de Biología Molecular. FMV-UNMSM; ⁴ Laboratorio de Histología, Embriología y Patología Veterinaria. FMV-UNMSM; ⁵ Laboratorio de Producción Avícola y Especies Menores. FMV- UNMSM

*A mi papá, te quiero mucho y espero
que estés orgulloso de mí.*

*A mi mamá y mis hermanos, por su apoyo
constante durante todos estos años.*

*A la Dra. Eliana por todo su confianza, tiempo y
apoyo dedicado a la elaboración de la tesis.*

*A la Dra. Rosita Gonzáles, a Jhoncito, y a Bruno
por su amistad y confianza depositada en mí*

*A la Dra. Rosita Perales y al Dr. Falcón por sus
consejos y sugerencias tan valiosas.*

*A mis amigas de la facultad, por todos los años compartidos
juntas y ser un apoyo incluso en los momentos difíciles.*

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, por todos los años de apoyo constante.

A mi Directora de Tesis, la Dra. Eliana, por todas sus sugerencias, consejos y revisiones durante la elaboración de la tesis.

Al Laboratorio de Patología Aviar por permitirme el uso de sus instalaciones y todas las facilidades brindadas para la elaboración de la tesis.

A la Facultad de Medicina Veterinaria de San Marcos por haberme tenido seis años y por transmitirme desinteresadamente el máximo de sus conocimientos posibles.

A todos los que de cualquier modo apoyaron la elaboración de la presente tesis, mi agradecimiento más sincero.

CONTENIDO

	<u>Página</u>
LISTA DE CUADROS	i
LISTA DE FIGURAS	ii
RESUMEN	iii
SUMMARY	iv
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	
1. SISTEMA INMUNE AVIAR	2
1.1 Bursa de Fabricio	5
2. ENFERMEDAD INFECCIOSA DE LA BURSA	5
2.1 Historia y Epidemiología	5
2.2 Etiología	7
2.3 Proteínas virales	7
2.4 Replicación viral	8
2.5 Serotipos	9
2.6 Resistencia del virus	9
2.7 Transmisión	9

2.8 Patogénesis	10
2.9 Presentación de la enfermedad	11
2.9.1 Forma Clínica	11
2.9.2 Forma Subclínica	12
2.10 Lesiones macroscópicas	13
2.11 Lesiones microscópicas	13
2.12 Diagnóstico	14
2.13 Diagnóstico diferencial	16
2.14 Prevención y control	16
2.14.1 Historia de las vacunas	16
2.14.2 Momento de vacunación	17
2.14.3 Tipos de vacunas	18
2.14.3.1 Vacunas inactivadas	18
2.14.3.2 Vacunas vivas	18
2.14.4 Vacunación en gallinas ponedoras	19
2.14.5 Nuevas vacunas	19

III. MATERIALES Y MÉTODOS

1. MATERIALES	20
1.1 Lugar de estudio	20
1.2 Animales	20
1.3 Alimento y agua	20
1.4 Vacunas	20
1.5 Cepa de desafío	21
1.6 Equipo y materiales para la crianza	21

1.7 Equipo y materiales para la toma y evaluación de muestras	21
2. MÉTODOS	
2.1 Tamaño muestral	23
2.2 Diseño experimental	23
2.3 Cronograma integral de vacunación	24
2.4 Cronograma de actividades a lo largo del estudio	25
2.5 Desafío experimental	25
2.6 Parámetros de evaluación	26
A. Signos clínicos y mortalidad	26
B. Evaluación de las lesiones macroscópicas	26
B.1 Índice bursal	26
B.2 Relación bursa/bazo	26
B.3 Proceso de evaluación de las lesiones microscópicas	27
B.3.1 Score de lesiones en bursa	27
B.3.2 Score de lesiones en bazo y timo	27
C. Evaluación serológica	27
D. Análisis estadístico	28
IV. RESULTADOS	29
V. DISCUSIÓN	36

VI.	CONCLUSIONES	41
VII.	BIBLIOGRAFÍA CITADA	43
VIII.	APÉNDICE	51

LISTA DE CUADROS

	Páginas
Cuadro 01. Porcentajes de mortalidad y signos clínicos 29 luego del desafío	
Cuadro 02. Presentación % de signos clínicos en el grupo C (control no vacunado)	30
Cuadro 03. Lesiones macroscópicas en Bursa de Fabricio post desafío	31
Cuadro 04. Índice bursal y atrofia en los grupos experimentales post 31 desafío	
Cuadro 05. Relación Bursa/bazo en los grupos experimentales 32 post desafío	
Cuadro 06. Score de lesiones microscópicas en bursa 33	
Cuadro 07. Score de lesiones microscópicas en bazo y timo	34
Cuadro 08. Títulos de anticuerpos (PGT) por ELISA en aves desafiadas y no desafiadas con la cepa F52/70 a los 32 días de edad	35

LISTA DE FIGURAS

Páginas

Figura 01: Presentación % de signos clínicos en el grupo C (control no
30

vacunado) desafiado con la cepa F52/70 a los 32 días de edad

Figura 02: Índice bursal (IB) en los grupos experimentales post desafío
32

Figura 03: Relación Bursa/bazo en los grupos experimentales post desafío
33

Figura 04: Títulos de anticuerpos (PGT) por ELISA en aves desafiadas
35

y no desafiadas con la cepa F52/70 a los 32 días de edad.

RESUMEN

El presente estudio evaluó la protección conferida por una vacuna contra la enfermedad de Gumboro en pollas de postura comercial. Se utilizaron 300 pollas de postura distribuidas en tres grupos de 100 aves cada uno, el grupo A vacunado y no desafiado, el grupo B vacunado y desafiado y el grupo C fue desafiado, no vacunado. La vacuna conteniendo una cepa intermedia – intermedia (vacuna tradicional) fue aplicada a los grupos A y B, dos veces a los 9 y 24 días de edad. El desafío de campo se realizó al día 32 de edad utilizando la cepa clásica F 52/70 vía ocular. Fueron registrados mortalidad, signos clínicos y lesiones macroscópicas post reto, con el fin de determinar la efectividad del programa de vacunación. Así mismo fueron evaluados índice bursal, relación bursa/bazo y lesiones microscópicas de órganos linfoides, bursa, bazo y timo después de la vacunación para evaluar la patogenicidad de la cepa vacunal empleada en la vacunación. Además se realizó una evaluación serológica al día 1, 35 y 45 días de edad mediante la prueba de ELISA indirecta. El grupo A no presentó mortalidad ni signos clínicos de Gumboro durante todo el estudio. Igualmente el grupo B no presentó mortalidad ni signos clínicos de Gumboro post desafío, lo cual si fue observado en el grupo C control, que presentó 60% de mortalidad por Gumboro post reto. Los valores de índice bursal en los tres grupos fueron compatibles con atrofia bursal, así mismo las lesiones histopatológicas fueron severas en los tres grupos. A los 45 días de edad, el grupo C no vacunado presentó la mayor seroconversión (3997) y los grupos vacunados A y B presentaron similares

promedios de títulos de anticuerpos (3277 y 3129 respectivamente). El presente estudio permite concluir que la vacunación de pollitas de postura con dos aplicaciones de una vacuna intermedia a los 9 y 24 días de edad, induce excelente protección contra la enfermedad clínica después del desafío con la cepa F52/70, aun cuando la vacuna ocasionó daño bursal hasta el grado de atrofia, tal como fue observada a los 10 días post vacunación.

Palabras clave: Virus de la enfermedad infecciosa de la bursa (IBDV), vacunación, vacuna intermedia – intermedi

SUMMARY

This study evaluated the protection conferred by a vaccine against Gumboro disease in laying hens. Were used 300 laying hens distributed in three groups of 100 hens each one, group A was vaccinated and unchallenged, group B was vaccinated and challenged and group C was challenged but not vaccinated.

An intermediate-intermediate vaccine (traditional vaccination) was applied in group A and B, twice at 9 and 24 days old . The field challenge was done at 32 days old using the classic strain F52/70 in the eye. Mortality, clinical signs and macroscopic lesions after challenge were registered in order to determine the efficiency of the vaccination program. Likewise bursal index, bursa/spleen relation and microscopic lesions of the lymphoid organs bursa, spleen and thymus after vaccination were evaluated for testing vaccine strain pathogenicity used in the vaccination. In addition, an indirect ELISA serological evaluation was done at 1, 35 and 45 years old.

The group A didn't present mortality or clinical signs during the study. Of the same way group B didn't present mortality or Gumboro clinical signs after challenge which was observed in group C who had 60% caused by Gumboro after challenge. The bursal index values in the three groups were compatible with bursal atrophy, likewise histopathological lesions were severe in the three groups. At 45 days old, group C unvaccinated presented the major seroconversion (3997) and vaccinated groups A and B presented similar antibodies titers (3277 y 3129 respectively). This study allows concluding that

laying hens vaccination with two applications of an intermediate vaccine at 9 and 24 days old, induces excellent protection against clinical disease after challenge with the F52/70 strain still when the vaccine caused bursal damage until atrophy grades, like was observed at 10 days after vaccination.

KEY WORDS: Gumboro disease, strain F52/70, vaccination, intermediate – intermediate vaccine

I. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Gumboro o Enfermedad Infecciosa de la Bursa (EIB) es una de las patologías de mayor importancia para la avicultura en el mundo debido a las pérdidas económicas por mortalidad y por su efecto inmunosupresivo. (Babaahmady, 2005). La aparición de virus muy virulentos de la enfermedad (vvIBDV) ha ocasionado que cobre mayor importancia a nivel mundial.

La EIB fue reconocida por primera vez en 1962 por Cosgrove en Gumboro, Delaware, EEUU. En el Perú se le conoce desde el año 1969 cuando se registraron los primeros casos (Castro-Pozo, 1994).

IBDV es un virus ARN de cadena doble que tiene un genoma bi-segmentado y pertenece al género Avibirnavirus de la familia Birnaviridae (Van der Berg, 2000). Hay dos serotipos distintos de virus 1 y 2, pero sólo el serotipo 1 causa enfermedad en pollos. (Maas, 2001)

La estructura del genoma viral consiste de 5 proteínas principales siendo la más importante la VP2 que contiene la región antigénica responsable de la producción de anticuerpos neutralizantes.

La enfermedad tiene dos formas de presentación: clínica y subclínica que están determinadas por la edad cuando ocurre la infección. La forma clínica se presenta en aves entre 3 y 6 semanas de edad (Toscano, 2002; Hoerr, 2006) La forma subclínica se caracteriza por una inmunosupresión en aves menores de tres semanas. La bolsa de Fabricio es el órgano primario del virus siendo la depleción linfóide la lesión más característica. La prevención y control de la enfermedad de Gumboro se realiza principalmente por medio de adecuadas medidas de bioseguridad y un buen programa de vacunación.

Para la vacunación se usan vacunas vivas que suelen atenuarse disminuyendo su patogenicidad, por el nivel de atenuación pueden clasificarse en vacunas suaves, vacunas intermedias y vacunas fuertes, calientes o “hot”. Todas las vacunas vivas, a excepción de las vacunas altamente atenuadas producen daño bursal produciendo algún grado de inmunosupresión. (Jackwood, 2006)

Actualmente la vacunación en ponedoras incluye dos vacunas intermedias aplicadas a los días 8 y 25 ó a los 18 y 28 días de edad (programas más conservadores). (Castro-Pozo, 2007).

El profesional de campo necesita decidir sobre el tipo de cepas vacunales a emplear en su programa de vacunación contra Gumboro, se conoce que las cepas vacunales intermedias causan daño bursal, también se sabe que las pollitas de postura comercial son las más susceptibles al virus de Gumboro, siendo la patogenicidad de las cepas vacunales aun mucho mayor que en pollos de carne, en donde ya se han realizado muchos estudios, por lo tanto se hacia necesario contar con estudios de protección y patogenicidad de cepas vacunales en pollas de postura, las que representan un excelente modelo de investigación para evaluar programas de vacunación por su sensibilidad a los cambios microscópicos e histológicos de la bursa antes y después del desafío.

El objetivo del presente estudio fue evaluar la efectividad de una vacuna intermedia intermedia (vacunación tradicional) contra la enfermedad infecciosa de la bursa en pollas de postura al ser aplicada dos veces a los 9 y 24 días de edad, mediante:

- Evaluación de la protección inducida por una vacuna intermedia intermedia mediante el registro de mortalidad, signos clínicos, lesiones macroscópicas e histopatológicas después del desafío con la cepa F 52/70.
- Evaluación de la seguridad de la vacuna por la determinación del índice bursal, relación bursa/bazo e histopatología de la bursa.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

1. SISTEMA INMUNE AVIAR

El sistema inmune aviar consta de dos mecanismos de defensa inmunológica: la inmunidad innata o natural y la inmunidad adquirida. La inmunidad natural incluye barreras anatómicas (piel, cilios traqueales, membranas mucosas), barreras fisiológicas (fiebre, enzimas, fluidos corporales, PH), células de respuesta inflamatoria y el sistema de complemento. La inmunidad adquirida incluye los mecanismos de respuesta celular y humoral dependiente de los órganos linfoides del sistema inmune. (Paredes, 2006)

Las aves presentan dos órganos linfoides primarios, la bursa de Fabricio y el timo además de órganos linfoides secundarios como el bazo, la médula ósea y estructuras linfoides como: la glándula de Harder, las tonsilas cecales, placas de Peyer y el divertículo de Meckel. (Borne y Comte, 2003)

Los órganos linfoides primarios son el lugar anatómico donde ocurre la diferenciación de las células inmunológicas en dos tipos de linfocitos: los linfocitos B en la bursa y los linfocitos T en el timo (Wakenell, 2006). Estas células producen reacciones específicas para combatir agentes extraños al organismo. (Borne y Comte, 2003):

Las células T son las responsables por las reacciones inmunes celulares y por la regularización de las reacciones del sistema inmunológico en general. Algunos linfocitos participan en la respuesta mediada por células (LT efectores), otros son auxiliares o helpers (LTh), otros son supresores (LTs) y otros memorizan los episodios de estimulación antigénica. (LT de memoria). (Quezada, 2003)

Dentro de los LTh, existe una diferenciación: las células LTh1 y las células LTh2.

Las células Th1 no solamente promueven la activación de macrófagos, sino también la producción de IgG2 a opsonizante, anticuerpos de la fijación de complemento y anticuerpos

involucrados en la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (Mosmann y Coffman, 1989). Por estas razones, las células Th1 pueden ser consideradas como responsables para las respuestas fagocíticas del huésped más bien que simplemente responsables de la inmunidad mediada por células (CML) (Romagnani, 1995-Abbas y col. 1996). Por otro lado, las células Th2 no solamente dan óptima ayuda en las respuestas inmunes humorales, que incluyen los cambios o "switching" de los isotipos IgE e IgG1 sino que también están involucradas en la inmunidad mucosal, a través de la producción de factores de crecimiento y diferenciación de mastocitos y eosinófilos. Además algunas citoquinas derivadas de Th2, como IL-4, IL- 10 e IL-13 inhiben muchas funciones de los macrófagos. Así las células Th2 pueden ser consideradas como responsables para las respuestas del huésped independientes de fagocitosis (Romagnani, 1995, Abbas y col.1996). Otras citoquinas, como la IL-3 factor estimulante de colonias de granulocitos/macrófagos (GM-CSF), y el factor de necrosis tumoral-alfa (TNF-(x), son producidas tanto por células Th1 como por células Th2 (Mosmann y col 1986).

Las células B son las responsables de la secreción de anticuerpos y responsables por las reacciones del sistema inmune humoral. La interacción del linfocito B con el antígeno provoca su división, diferenciación y producción de anticuerpos circulantes. La subdivisión de estos linfocitos genera 3 subpoblaciones: células de memoria, células plasmáticas que a su vez producen anticuerpos y células dendríticas cubiertas con antígeno para formar los centros germinales. (Quezada, 2003)

En las aves, las células plasmáticas producen tres tipos de inmunoglobulinas (Quezada, 2003; Borne y Comte, 2003; Fernández, 2006; Wakenell, 2006):

Ig Y: En los mamíferos, conocida como Ig G, principal inmunoglobulina en la yema y el suero (hasta 75% de concentración en el suero), son las principales efectoras de la inmunidad humoral. Constan de dos sitios de unión para el antígeno. Presente en la fase tardía de la infección o de la respuesta serológica, es la inmunoglobulina determinada en las pruebas serológicas (HI/ELISA).

Ig M: primera inmunoglobulina en aparecer luego de un primer estímulo antigénico. Son consideradas la primera línea de defensa. Cuenta con 5 subunidades unidas radicalmente en

forma de estrella, cada subunidad tiene dos sitios antigénicos, siendo capaz cada anticuerpo de unirse a 10 moléculas de antígeno.

Ig A: Inmunoglobulinas responsables por las secreciones y los fluidos biológicos. Primer mediador de la inmunidad local. Es un dímero (dos subunidades) que se produce en el subepitelio del tejido linfoide intestinal excepto las tonsilas cecales, tejido respiratorio y genital, presentes en gran cantidad en la bilis y en las vías respiratorias.

1.1 Bursa de Fabricio

Órgano linfoide primario y único de las aves. Descubierta por Hyeronimus Fabricius en el año 1621. El primer esbozo de este órgano aparece al cuarto día de incubación en la unión del ectodermo y el endodermo (Paredes, 2006). Constituye un sitio de maduración y diferenciación de linfocitos B. Sus folículos contienen más del 90% de estas células. De forma de saco que se ubica dorsal respecto a la cloaca conectada a ésta por un conducto. Al interior de este saco se extienden pliegues del epitelio, los cuales se orientan hacia la luz, y entre esos pliegues se encuentran dispersos folículos linfoides. Cada folículo se divide en corteza y médula. La corteza contiene linfocitos, plasmocitos y macrófagos. En la unión corticomedular existen una membrana basal y una red capilar, en cuyo interior hay células epiteliales. Estas células epiteliales medulares son reemplazadas por linfoblastos y linfocitos en el centro del folículo. Dentro de la médula se encuentran células dendríticas secretoras especializadas, con función desconocida. Alcanza su mayor tamaño en las aves pocas semanas después de la eclosión, tras la madurez sexual involuciona gradualmente. (Tizard, 2002; Paredes, 2006)

2. ENFERMEDAD INFECCIOSA DE LA BURSA

2.1 Historia y Epidemiología

La epidemiología del IBDV se ha centrado en la variabilidad antigénica y patógena del virus. La diversidad patogénica varía desde muy virulento (vvIBDV) que causa alta

morbilidad y mortalidad hasta cepas que producen infecciones subclínicas. (Jackwood, 2006)

El primer caso de la enfermedad de Gumboro se registró en la península de Delmarva, EEUU el año 1957 causando una morbilidad y una mortalidad muy agudas.

Inicialmente se confundieron los brotes de Gumboro con brotes de bronquitis infecciosa (virus Gray) debido a la semejanza de las lesiones nefrotóxicas, pensando que el segundo era el agente causal. Estudios posteriores demostraron que las aves inmunes al virus de Gray aún se infectaban con el agente del IBD y desarrollaban cambios patológicos en la bursa específicos hasta que Winterfield en 1962 tuvo éxito en el aislamiento del agente en huevos embrionados dándose a conocer como agente bursal infeccioso, Hitchner luego sugirió el término de “enfermedad infecciosa de la bolsa”. (Saif y Lukert, 2003; Icochea, 2004)

Hacia el año 1965 la afección se había extendido por todas las zonas productoras de broilers y huevos de Estados Unidos. Predominaban las cepas clásicas o estándar y se controlaron mediante vacunación. (Banda, 2006)

En 1972 se dio a conocer que las infecciones por el IBDV en edad temprana eran inmunosupresoras y en 1980 se dio a conocer el segundo serotipo de la enfermedad. (Saif y Lukert, 2003)

Durante los años 1984 y 1985, se dieron a conocer los virus variantes. Estas cepas originaron enfermedad en presencia de inmunidad materna, lo que las cepas clásicas no podían hacer. (Saif y Lukert, 2003; Banda, 2006).

A partir de 1987 aparecieron en Europa, originalmente en Holanda, brotes de IBD virulentos y graves alcanzando hasta 30 y 60% de mortalidad en broilers y ponedoras respectivamente. Las cepas causantes de estos brotes se les identificaron como cepas de IBVD muy virulentas (vvIBDV). A partir de la aparición de estos brotes de vvIBDV, dichos virus se extendieron rápidamente a otros continentes, apareciendo en 1990 en el Asia, primero en Japón y diseminándose por el continente rápidamente. (Van der Berg, 2000; Banda, 2006)

En 1995, la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) reportó que el 80% de los países miembros informaron de la existencia de casos agudos de IBD, los sin embargo no

se ha detectado dichas cepas en Australia, Nueva Zelanda y América del Norte. (Banda, 2006)

En América Central y del Sur, se han detectado brotes causados por vvIBDV en República Dominicana, Brasil y Venezuela (Cookson, 2007; Flamenco, 2007). Después del análisis filogenético, los vvIBDV de Brasil y de República Dominicana se agruparon en dos subgrupos distintos, mientras que los vvIBDV de Venezuela se asociaban más bien a cepas procedentes de Europa y Asia (Banda y Villegas, 2004; Piña, E, 2006.; Di Fábio, 2006).

En el Perú, la enfermedad se conoce desde el año 1969 siendo los primeros casos descritos por Ramos y Tsunechigen (Castro-Pozo, 1994). Un estudio realizado en países de Latinoamérica incluido el Perú, se pudo detectar la presencia en el país de cepas variantes Delaware A y E, además de cepas clásicas como la PBG-98 y STC – like (Icochea, 2002; Banda y Villegas, 2003)

2.2. Etiología

El IBDV al inicio se clasificaba como un virus *Picornaviridae*, ahora se conoce que es un miembro de la familia *Birnaviridae*, género *Birnavirus*. El prototipo de la familia es el virus de la necrosis pancreática del pez. Otros miembros son el virus X *Drosophila* de la mosca de la fruta y el virus *Tellina* de los moluscos bivalvos. Tiene un genoma constituido por dos segmentos de RNA de tira doble. Es un virión no envuelto, tiene una cubierta simple de simetría icosaédrica compuesta por 32 capsómeros y un diámetro que varía de 55 a 65 nm. (Van den Berg, 2000; Saif y Lukert, 2003)

2.3 Proteínas virales

La estructura del genoma viral consiste en dos segmentos. Un segmento largo llamado segmento A que codifica las proteínas virales VP2 (41 kD), VP3 (32 kD), VP4 (28 kD) y VP5 (21 kD). El segmento B (más pequeño) codifica la proteína viral VP1 (90 kD) (Gomes, 2005). Se ha observado proteínas adicionales como la proteína VPX y se piensa que tiene una relación precursor – producto. (Van der Berg, 2000; Saif y Lukert, 2003).

Las proteínas VP2 y VP3 son las proteínas principales y estructurales de la cápside del IBDV. En los virus del serotipo 1 constituyen 51% y 40% de las proteínas virales

respectivamente, mientras que la VP1 y la VP4 son proteínas menores conformando el 3% y 6% de las proteínas virales (Yehuda y Goldway, 2000; Saif y Lukert, 2003).

La proteína VP1 es una polimerasa RNA dependiente, presente en cantidades pequeñas en el virión como un polipéptido libre así como unido a la proteína del genoma. Juega un rol clave en el encapsulamiento de las partículas virales.

La proteína VP2 es reconocida como el antígeno protector del hospedero ya que contiene la región antigénica responsable de la producción de anticuerpos neutralizantes y de la especificidad del serotipo. Se ha observado que esta proteína difiere sólo 3 a 4 aminoácidos entre las cepas clásicas y las muy virulentas (vvIBDV) (Maas, 2001)

La proteína VP3 es un antígeno de grupo no específico que es reconocido por anticuerpos no neutralizantes, algunos de los cuales generan una reacción cruzada entre los serotipos 1 y 2. La VP3 actuaría como intermediario interactuando con la VP2 y la VP1, la formación de complejos VP1 – VP3 parece ser un importante paso en la morfogénesis de las partículas del IBDV.

La proteína VP4 es una proteasa viral envuelta en el procesamiento de poliproteínas. Procesa las proteínas VP2, VP3 y a ella misma, VP4.

La proteína VP5 es de función desconocida, aparentemente tiene una función reguladora y jugaría un papel clave en la diseminación viral (Van der Berg, 2000)

2.4 Replicación viral

Se conoce poco acerca de los eventos relacionados con la replicación viral de los birnavirus. El mecanismo de la síntesis de ARN no se ha determinado con claridad aunque se ha demostrado que el virus replica su ácido nucleico mediante un mecanismo de desplazamiento de filamento. La transcripción y replicación se produce luego de la penetración celular sin desnudamiento total del virus (Lukert y Saif, 2003). Se describe la formación de complejos VP1 – VP3 en el citoplasma de células infectadas y que eventualmente se liberaron en el cultivo celular, sugiriendo que la polimerasa viral (VP1) se incorpora en los viriones mediante interacciones con la proteína de la cápside interna (VP3). Lombardo et al. (2000) mostraron que la VP5 se acumula dentro de la célula huésped e induce lisis celular, permitiendo la liberación de los viriones. Chevalier et al.

(2005) demostraron que el pep 46 (un polipéptido estructural en la VP2) está involucrado en la adherencia del virus y la penetración celular. (Paredes, 2006)

2.5 Serotipos

Existen dos serotipos de virus 1 y 2, el serotipo 1 aislado en pollos, patos y pavos, patógeno sólo en pollos, serotipo usado para la fabricación de vacunas. Mediante la técnica de neutralización viral se han reconocido 6 subtipos antigénicos dentro de este serotipo que incluyen cepas clásicas y variantes. Los subtipos 1, 2, 3 y 5 contienen virus antigénicos standard, el subtipo 4 contiene la variante tradicional Delaware y el subtipo 6 contiene las “nuevas variantes” que muestran menos reacción cruzada con otros grupos moleculares. El serotipo 2 es un virus no patógeno aislado de pavos. (Maas, 2001; Icochea, 2002)

2.6 Resistencia del virus

Es un virus resistente a muchos desinfectantes como el éter y el cloroformo por ser un virus “desnudo”. Resiste diferentes PH siendo estable a un PH de 9.2, sin embargo es sensible a PH muy alcalinos (PH 12), mas no a los muy ácidos (PH2 produce destrucción del virus). Sobrevive casi 1 hora a 60°C y 5 horas a 56°C. (Biarnés, 2006). Se reduce su infectividad a la exposición de formalina al 0.5% por seis horas y se inactiva si se expone a fenol o cresol en concentraciones de 1% durante una hora mas no en fenol al 0.5%. (Villegas, 2001). Al ser un “virus desnudo”, (su nucleocápside no se encuentra rodeada de la cápsula lipoproteica), le da una naturaleza resistente, lo que permite su persistencia en el ambiente a pesar de una buena limpieza y desinfección. (Saif y Lukert, 2003).

En galpones se ha encontrado virus infectante hasta 122 días después del retiro de las aves, en alimento, heces y agua hasta después de 52 días (Villegas, 2001)

2.7 Transmisión

La enfermedad de Gumboro es muy contagiosa. Las aves afectadas pueden eliminar el virus hasta 14 días postinfección. (Biarnés, 2006). La transmisión puede ser directa o indirecta mediante fomites. No existe evidencia que el virus pueda ser transmitido por vía transovárica. (Villegas, 2001). El virus de campo generalmente se disemina con rapidez en

las parvadas susceptibles, por lo que no es poco frecuente que ocurra el desafío en el 80 a 90% de una parvada en una semana. (Cookson, 2003)

.Se ha podido aislar virus del *Alphitobius diaperinus*, del gusano de la harina, mosquitos, ratas e inclusive de heces de perros, no obstante aún no se determina el papel de estos organismos en la transmisión (Villegas, 2001; Pagés-Manté y Torrents, 2004)

2.8 Patogénesis

El órgano más afectado por el virus es la bursa, fuente de linfocitos B en las aves. La severidad de la enfermedad se relaciona directamente con el número de células susceptibles presentes en la bursa, de ahí que la edad de mayor susceptibilidad es en aves entre 3 y 6 semanas cuando el desarrollo de la bursa es máximo. Después de la infección oral o inhalación del virus, se produce una primera replicación en los macrófagos y linfocitos del GALT que incluye tonsilas cecales, placas de Peyer y nidos linfoides asociados al sistema gastrointestinal para luego viajar por el torrente sanguíneo hacia la bursa. (Van der Berg, 2000; Caceci, 2005).

En pollos infectados por vía oral, se pudo detectar antígeno viral en macrófagos y células linfoides en el ciego cuatro horas después de la inoculación; después de una hora se detectó virus en células linfoides del duodeno y yeyuno. Cinco horas después de la inoculación se detectó presencia del virus en el hígado. (Saif y Lukert, 2003).

.Luego de 13 horas post inoculación, la mayoría de los folículos son positivos al virus. A las 16 horas post inoculación se produce una segunda y pronunciada viremia con una segunda replicación ocasionando enfermedad y muerte. (Van der Berg, 2000)

La causa exacta de enfermedad y muerte no esta clara pero no parece estar relacionada solamente a la severidad de las lesiones y al daño bursal sino debido a la formación de complejos inmunes. (Van der Berg, 2000)

El macrófago puede jugar un rol específico en la patología por la liberación excesiva de citoquinas como la IL-6 o TNF. Las células del linaje monocito – macrófago se infectan de una manera persistente y juegan un rol importante en la diseminación del virus y en el curso de la enfermedad. También se ha descrito un rol intermedio de linfocitos T, los cuales se infiltran en los lugares de replicación del virus. Los linfocitos T de la bursa activados por el IBDV muestran una regulación positiva hacia las citoquinas mediante la liberación de IFN

gamma que activa a los macrófagos para producir factores inflamatorios como el óxido nítrico, TNF alfa, IL 6 que pueden ocasionar la destrucción celular. (Van der Berg, 2000; Rauw, 2006)

La depleción de las células B en la bursa se debe mayormente a la necrosis y a la apoptosis siendo las células B y T inmaduras altamente susceptibles siendo lisadas por la infección.

Recientes estudios han demostrado que la inmunosupresión por IBDV es en parte producida por apoptosis. Un efecto directo de las proteínas VP2 y VP5 ha sido implicado en la producción de este mecanismo pero aún falta investigación para demostrarlo. Aunque la inmunosupresión causada es dirigida principalmente hacia las células B, un efecto de inmunidad mediada por células ha sido demostrado.

A la recuperación de la enfermedad o a la infección subclínica le seguirá la inmunosupresión. Tras la infección contra el IBDV se produce una regulación positiva de los linfocitos T activándolos y estos a su vez activando a los macrófagos mediante el IFN gamma, al producirse un exceso de esta citoquina, se observa una regulación negativa de los linfocitos T inhibiendo su efecto mitogénico observándose inmunosupresión, cuya duración e importancia dependerá de la cepa y dosis del virus (Rauw, 2006)

2.9 Presentación de la enfermedad

La enfermedad tiene dos formas de presentación, clínica y subclínica que están determinadas por la edad cuando ocurre la infección, por la virulencia de la cepa viral involucrada y por el grado de inmunidad de las aves infectadas. (Villegas, 2001)

En estudios se ha detectado que el orden de sensibilidad a la enfermedad de Gumboro en primer lugar son las gallinas ponedoras, broilers y finalmente las reproductoras (Maas, 2001; Brialé, 2006)

2.9.1 Forma Clínica:

La enfermedad se presenta principalmente en aves entre 3 y 6 semanas de edad, aunque se ha reportado entre 2 y 15 semanas de edad (Toscano, 2002; Hoerr, 2006). Se caracteriza por un síndrome hemorrágico y una curva de mortalidad en forma de pico por 5 a 7 días. Se ha

postulado que la posible causa de la mortalidad clínica sea el resultado de una reacción a la formación de complejos antígeno – anticuerpo – complemento (Morales, 2004).

El periodo de incubación es breve y los signos clínicos se presentan 2 a 3 días luego de la exposición persistiendo por 7 a 8 días. El cuadro se presenta de manera súbita, el índice de morbilidad llega casi al 100% y la mortalidad puede ser desde nula hasta alta de 20 a 30%, siendo las pollitas de postura más susceptibles.(Van der Berg, 1991).

Los brotes iniciales suelen ser los más agudos, los brotes subsecuentes menos intensos. Los signos más frecuentes son diarrea blanquecina o acuosa, las aves realizan la acción de picar su propia cloaca, plumas sucias en la cloaca, anorexia, depresión, plumas erizadas, temblores, postración intensa y muerte. Las aves se deshidratan y tienen temperatura subnormal. (Saif y Lukert, 2003)

2.9.2 Forma Subclínica

La forma subclínica se caracteriza por una inmunosupresión humoral y celular, en muchos casos es temporal siendo de un grado mayor cuanto más joven es el ave, es de mayor intensidad en aves menores de tres semanas (Rauw y Lambrecht, 2006; Flamenco, 2007), interfiriendo con la producción de anticuerpos frente a las vacunaciones de otras enfermedades (Villegas, 2001) y haciendo a los pollitos más susceptibles a otros agentes, sin embargo se ha observado que aunque haya inmunosupresión contra otros antígenos, la respuesta contra el IBDV se mantiene intacta, incluso en pollitos de 1 día de edad. (Saif y Lukert, 2003).

En un estudio realizado por Jagdev (2006) en pollitos SPF se observó una reducción de la población de macrófagos residentes en bursa y bazo, y también una disminución en la respuesta mitogénica de los linfocitos T, lo que indicaría que el virus puede afectar también otras células del sistema inmune.

Debido a la inmunosupresión, las aves presentan un incremento a la susceptibilidad a algunas enfermedades infecciosas, como enfermedad respiratoria crónica complicada, enfermedad de Newcastle, hepatitis con cuerpos de inclusión, laringotraqueitis infecciosa, anemia infecciosa aviar (Yuasa, 1979) e infecciones por reovirus. También incrementa la susceptibilidad a *Salmonella typhimurium*, *Pasteurella multocida*, *Escherichia coli*,

Staphylococcus aureus e infecciones por *Eimeria sp.* (Villegas, 2001; Gonzáles, 2005; Cookson, 2007)

Se describen brotes donde únicamente se observa alteración en la ganancia de peso, o inclusive pueden producirse anticuerpos sin la aparición de signos clínicos. (Villegas, 2001)

2.10 Lesiones Macroscópicas

El daño bursal en un pollo susceptible generalmente ocurre con bastante rapidez y profundidad (Cookson, 2003). La bolsa de Fabricio es el órgano primario del virus. El tercer día posterior a la infección la bursa comienza a aumentar de tamaño, presenta hiperemia y edema con presencia de un trasudado amarillento gelatinoso en la superficie serosa. El cuarto día la bursa tiene el doble de su peso y comienza a decrecer. El quinto día la bolsa ha retornado a su peso normal pero continúa atrofiándose, desaparece el trasudado y hacia el octavo día tiene el tercio de su peso original. La bursa puede presentar hemorragias petequiales hasta una hemorragia extensa, en estos casos, se puede observar sangre en las deyecciones.

Se observa hemorragia en los músculos pectorales y muslos, degeneración hepática, aumento de moco en el intestino, cúmulo de uratos en uréteres, y alteraciones renales (en etapas avanzadas por deshidratación). (Villegas, 2001)

El bazo puede estar aumentado de tamaño a veces con pequeños focos grises dispersos uniformemente. También se puede presentar hemorragias en la mucosa del punto de unión del proventrículo y la molleja. (Saif y Lukert, 2003).

En un estudio realizado por Gonzáles (2005), observó que las lesiones más frecuentes en un caso de Gumboro son la inflamación de la bolsa (94.9% de los casos) y las hemorragias en masas musculares (88.1%), seguido por la enteritis catarral (30.5%).

2.11 Lesiones Microscópicas

Microscópicamente, se observan lesiones en los órganos linfoides siendo más severa en la bolsa de Fabricio (Ley, 1983), las lesiones son más severas durante los primeros días de infección y gradualmente se va recuperando. Hay hiperemia bursal algunas veces con focos de hemorragia petequiales. Estudios han demostrado que la replicación del IBDV en la bursa es acompañada por un ingreso de células T en el lugar de replicación viral

(Rautenschlein, 2003). Se observa degeneración y necrosis de linfocitos en el área medular de los folículos linfoides que son sustituidos por neutrófilos, restos picnóticos y células reticuloendoteliales hiperplásicas, además de edema severo e hiperemia. Al observar las células, se observa encogimiento celular, cromatina condensada en grupos perinucleares y presencia de cuerpos apoptóticos (Vasconcelos, 2007). La evidencia de depleción linfoides con frecuencia se observa desde los 2 días post infección, alcanzando su máximo nivel por lo general hacia los 4 ó 5 días postinfección. (Cookson, 2003). La bursa puede recuperarse aproximadamente 8 días después del desafío y comienza a repoblarse de linfocitos B. En la mayoría de folículos, la médula es repoblada más rápido que la corteza (Vervelde, 1997). En casos más severos, la bursa puede llegar a atrofiarse observándose el desarrollo de cavidades quísticas tanto en la zona medular como cortical de los folículos con presencia de exudado eosinófilo, fibroplasia interfolicular, necrosis y fagocitosis de neutrófilos, macrófagos y células plasmáticas e invaginación del epitelio el cual adopta la forma de glándulas mucosas. (Saif y Lukert, 2003; Babaahmady, 2005).

Las lesiones bursales más observadas casi en la totalidad de los casos son necrosis, apoptosis, despoblación linfocitaria y edema, en menor grado atrofia folicular, formación de quistes e hiperemia. (Babaahmady, 2005).

Otros cambios no específicos de la enfermedad se encuentran en el hígado y el riñón como: necrosis y lipidosis hepática, depósitos cristalinos intratubulares en riñones y un aumento focos linfoides ectópicos (Ley, 1983)

2.12 Diagnóstico

Para la detección de anticuerpos específicos son usadas las pruebas de neutralización viral y ELISA. La prueba de neutralización viral es la “prueba de oro” para el diagnóstico del IBDV, pero debido a su mayor complejidad y a su mayor costo, es más utilizada en el campo la prueba de ELISA, que es una prueba rápida y barata. La prueba de ELISA sirve también para estimar la edad de vacunación de la parvada. Algunos estudios demostraron que sobrestimaba el porcentaje de aves receptivas a la vacunación, sin embargo no se puede negar que es una prueba infalible en la lucha contra la enfermedad de Gumboro. (Icochea, 2002; De Herdt, 2005).

El principio básico de ELISA para la obtención de resultados es colocar las muestras en los pocillos de las microplacas y se lee la densidad óptica (D.O.) a una determinada longitud de onda (650 nm) mediante espectrofotometría.

Esto es leído por el registrador (software Xchek) , el cual convierte la densidad óptica de cada muestra en títulos produciéndose una variable llamada S/P (samples/positives), luego, usando como base los promedios de los títulos de los controles positivo y negativo, crea un ratio, por lo cual todas las muestras mediante este software se les asignará un título. Luego, estos se agruparán dando las curvas explicando el comportamiento de la enfermedad en la población que se desea estudiar. (Reina, 2003)

La conversión del color de las muestras en unidades cuantitativas depende del detector fotoeléctrico y el registrador, dos componentes clave del espectrofotómetro,. La función del detector fotoeléctrico es de transductor de luz en electricidad. La luz provoca el desplazamiento de electrones en el metal del detector, produciendo una corriente eléctrica que es proporcional a la intensidad de la luz recibida. La función del registrador es medir la señal del detector, la compara con la medida estándar de los controles negativos y positivos y genera una medida. (Gral, 2006)

Para la detección del virus, se utiliza inmunofluorescencia directa y/o inoculación en huevos embrionados de 11 días, la muerte embrionaria ocurre entre los tres y cinco días post inoculación. Las lesiones observadas en los embriones incluyen congestión y hemorragias cutáneas, esplenomegalia y necrosis hepática. (Villegas, 2001)

Desde los últimos años con la necesidad de identificar la naturaleza patogénica o antigénica de nuevas cepas, las técnicas de ELISA de Captura de Antígeno y RT/PCR vienen siendo empleadas. La técnica de ELISA de captura de antígeno aprovecha la tecnología de los anticuerpos monoclonales y tiene la ventaja de detectar el virus directamente del tejido bursal. (Icochea, 2002)

El PCR se usa para caracterizar los aislamientos virales dentro de grupos moleculares (seis grupos moleculares). Este test es de gran ayuda para determinar si el virus es vacunal o si es virus de campo (Robinette, 2002).

2.13 Diagnóstico diferencial

El comienzo súbito, morbilidad, plumas erizadas, aspecto decaído y algunas veces sangre en las deyecciones de las aves en los brotes iniciales de la enfermedad sugieren brotes agudos de coccidiosis, sin embargo las hemorragias musculares y el crecimiento edematoso o hemorrágico de la bolsa de Fabricio son sugestivos de IBD.

La nefrosis aguda presente en IBD, puede confundirse con diversos orígenes por lo que no deben ser una base de diagnóstico. La privación de agua genera nefrosis y atrofia bursal que se asemeje a la producida por el IBDV, sin embargo, esta patología se presentará en pocas aves. Ciertas cepas del virus de la bronquitis infecciosa producen daño renal (virus Gray), sin embargo a la necropsia no se observará daño bursal ni signos respiratorios. (Saif y Lukert, 2003)

Jakowski y col. comunicaron atrofia bursal en la infección inducida de manera experimental con cuatro aislamientos de la enfermedad de Marek, pero la respuesta histológica fue diferente a la que se encuentra en IBD. (Saif y Lukert, 2003)

2.14 Prevención y control

La prevención y control de la enfermedad de Gumboro consiste principalmente en una buena bioseguridad y un buen programa de vacunación. Debido a la resistencia del virus, la bioseguridad no sería suficiente por lo que se debe tener sumo cuidado al elegir un programa de vacunación.

2.14.1 Historia de las vacunas

Las vacunas inactivadas y las cepas atenuadas del virus de Gumboro, estuvieron disponibles a comienzos de los años 70 en los Estados Unidos. Se usaron las primeras vacunas de “virus vivo”, éstas fueron preparadas con cepas de campo que producían inmunosupresión en pollos susceptibles. Posteriormente entre los años 1975 y 1976 se atenuaron el virus que se usaba en vacunas de virus vivo como la cepa PBG o la cepa Lukert original. Posteriormente, salen al mercado cepas un poco más potentes derivadas de la cepa Lukert, de la cepa 2512 u otras con una mayor capacidad de inducir protección en presencia de anticuerpos maternos. (Castro-Pozo, 1994). Dentro de los substratos

tradicionales para la producción de vacunas contra el IBDV tenemos los originados en embrión de pollo y los cultivos celulares de fibroblastos de embrión de pollo, pero no son los más apropiados, sobretodo para las cepas variantes del virus. Las bursas de Fabricio parecen ser un substrato ideal pero es un reto debido a las variaciones que se encuentran normalmente en el tejido bursal, además de la contaminación con virus extraños. (ACL, 2003)

2.14.2 Momento de vacunación

La vacunación se lleva a cabo para proteger a las aves de la enfermedad aguda y de la inmunosupresión por lo que es importante que el antígeno utilizado en la vacuna induzca una adecuada protección de anticuerpos que proteja contra el desafío de campo. (Rodríguez-Chávez, 2002).

Se debe tener en cuenta la vacuna a usar, el momento apropiado para la vacunación de acuerdo al nivel de anticuerpos maternos, vía de vacunación, virulencia del virus vacunal (Saif, 2003; Cardoso, 2002), las cepas presentes en el área de producción y su grado de virulencia, presencia de otros agentes inmunosupresores infecciosos o no infecciosos, historia de monitoreos serológicos periódicos, nivel de bioseguridad y de las condiciones ambientales. (Cookson, 2003; Fernández, 2006).

Uno de los puntos más importantes para escoger el momento preciso para la vacunación es obtener el nivel de anticuerpos maternos de la parvada al día de edad, los cuales en madres con una buena protección vacunal, estos anticuerpos pueden mantenerse en buenos niveles entre 3 a 4 semanas, para luego ir declinando. (Alam, 2002). En teoría, la vida media de estos anticuerpos es de 3 a 3.5 días en broilers, 4.5 días en reproductores y 5.5 días en gallinas ponedoras. (De Wit, 2001; Bernardino, 2003).

Si una vacuna es dada a una edad temprana, cuando los pollitos aún tienen altos niveles de anticuerpos maternos, el virus vacunal será neutralizado y no desarrollará inmunidad. Si la vacuna es dada muy tarde, el virus de campo puede infectar a la parvada antes que el virus vacunal se establezca. Este dilema crea una “ventana de oportunidad” muy reducida en la cual se podrá eficientemente un lote. (Lucio-Martínez, 2002; Kreager, 2006)

2.14.3 Tipos de vacuna

Existen dos tipos de vacunas principalmente: vacunas inactivadas y vacunas vivas.

2.14.3.1 Vacunas inactivadas:

Estas vacunas son usadas mayormente en reproductoras para la transmisión de anticuerpos maternos a la progenie (Corley, 2002). Se sabe que una vacuna inactivada aplicada a las 20 semanas de edad, permiten un paso de anticuerpos maternos adecuados a la progenie, los cuales se mantendrán entre 3 a 4 semanas. (Eidson, 1980)

2.14.3.2 Vacunas vivas:

Las vacunas vivas funcionan a dos niveles principalmente. En primer lugar, estimulan una respuesta inmune activa contra el virus y en segundo lugar ayudan a retrasar el establecimiento del desafío de campo haciendo que las aves más susceptibles estén menos “disponibles”. (Cookson, 2003)

Para el control de IBD se usan vacunas vivas que suelen atenuarse rebajando su patogenicidad, por el nivel de atenuación pueden variar clasificándose en vacunas suaves, vacunas intermedias y vacunas fuertes, calientes o “hot”. (Jackwood y Sommer, 2002). Todas las vacunas vivas, a excepción de las vacunas altamente atenuadas producen daño bursal produciendo algún grado de inmunosupresión. (Jackwood, 2006)

Las vacunas intermedias pueden ser utilizadas en pollos con inmunidad maternal elevada, ya que estas cepas son capaces de superar altos niveles de inmunidad maternal a diferencia de las cepas atenuadas suaves (Tsukamoto, 1995). Se dividen en vacunas intermedias suaves, intermedia intermedia e intermedia fuerte. (Rautenschlein, 2005) Estas vacunas varían en cuanto a antigenicidad y virulencia, provocando en mayor o menor grado inmunodepresión por inducir atrofia en la bolsa de Fabricio, así como la producción del nivel de anticuerpos depende de la antigenicidad de la vacuna y de la capacidad de respuesta del sistema inmune. (Toscano, 2002)

Las vacunas intermedias intermedias pueden provocar lesiones histopatológicas suaves y son altamente inmunogénicas siendo estas las más utilizadas en gallinas ponedoras, debido a que el uso de intermedias plus está contraindicado. (Cookson, 2003; Giambrone, 2006).

2.14.4 Vacunación en gallinas ponedoras

En el Perú, a fines de los años 80, el programa de vacunación en ponedoras consistía en aplicar dos vacunas intermedias a los 10 y a los 22 días de edad. Durante los años 90, muchos avicultores agregaron una vacunación más con vacuna intermedia que se aplicaba a los días 10, 18 y 24 días de edad. Actualmente la vacunación mayormente consiste en dos vacunas intermedias aplicadas a los días 8 y 25 ó a los 18 y 28 días de edad (programas más conservadores). Otro programa de vacunación más moderno consiste en el uso de tres vacunas intermedias a los días 10, 25 y 35 (Castro-Pozo, 2007). Se recomienda en ponedoras Isa Brown la vacunación a los 18 – 20 días y otra a los 28-30 días de edad, aunque se puede aumentar el número de vacunaciones según la severidad del desafío (Hy-Line, 2005). Si se requiere vacunar aves en producción, se utilizan vacunas con cepas suaves (Saif, 2006).

2.14.5 Nuevas vacunas

Se han descrito una variedad de vacunas de ingeniería genética, de precio más elevado, también se han desarrollado vacunas para vacunación in ovo (Sharma, 2002; Saif y Lukert, 2003), las cepas suaves e intermedias sirven para este tipo de vacunación ya que estas cepas se replican extensivamente en los tejidos embrionarios e inducen protección contra el desafío de IBDV.(Sharma, 2001). En algunas zonas donde el IBDV es muy problemático se han producido “autovacunas” demostrando ser eficaces siendo capaces de proteger del desafío contra cepas locales (Gay, 2002; Gilbert, 2002) y también vacunas recombinantes, las cuales consisten en insertar en un agente conocido como vector, genes de otro agente, de tal forma que el “vector” es capaz de producir anticuerpos contra sí mismo y contra el otro agente del cual han sido incorporados los genes que expresa su antígeno. (Yehuda y Goldway, 2000; Sauri, 2002; Quezada, 2005). Durante los dos últimos años ya están en el mercado las vacunas vectorizadas.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

1. MATERIALES

1.1 Lugar de estudio

- Crianza: En las instalaciones de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Necropsia, toma de muestra y examen serológico: En el Laboratorio de Patología Aviar
- Exámenes histopatológicos: En el Laboratorio de Histología, Embriología y Patología Veterinaria de la Facultad.

1.2 Animales

Se emplearon 300 pollas de postura Isa Brown de un día de edad provenientes de un mismo lote de madres.

1.3 Alimento y agua

Se administró alimento y agua *ad libitum* de acuerdo a la edad y requerimientos nutricionales utilizando alimento concentrado comercial.

1.4 Vacunas:

Se usaron las siguientes vacunas a virus vivo:

- Vacuna a virus vivo Contra la enfermedad infecciosa de la bursa conteniendo la cepa 2512 de tipo intermedia intermedia.
- Vacuna viva bivalente contra la enfermedad de Newcastle (cepa VG/VA – enterotrópica) y la Bronquitis infecciosa (cepa H120)

1.5 Cepa de desafío

La cepa de desafío que se utilizó durante el estudio fue una cepa clásica del virus de Gumboro F52/70 (10^4 DIE50)

1.6 Equipo y materiales para la crianza

- Bebederos y comederos convencionales
- Bandejas PVC para pollos BB
- Comederos tipo tolva
- Bebederos tipo canaleta
- Campanas de calefacción
- Separadores de madera y alambre
- Nordex plásticos de separación
- Jabas de plástico para el transporte de las aves
- Equipo de limpieza y desinfección
- Mochila de desinfección
- Cama de viruta
- Cortinas de polipropileno blancas y negras
- Mangueras y válvulas de gas
- Termómetros de máxima y de mínima
- Balanza digital
- Cámara digital

1.7 Equipo y materiales para la toma y evaluación de muestras

a) Equipo

- Computadora e impresora
- Microscopio

b) Materiales para evaluación macroscópica

- Equipo de disección
- Frascos de boca ancha con tapa y etiquetados
- Frascos de vidrio para muestras de sangre
- Formol bufferado
- Guantes estériles
- Balanza eléctrica marca Mettler, para el peso de las bursas.
- Balanza mecánica marca Ohaus, para el peso corporal

c) Materiales para evaluación histopatológica

- Frascos de boca ancha con tapa
- Formol al 10%
- Microscopio de luz
- Parafina en escamas
- Alcoholes etílicos al 100%, 95% y 70%
- Xilol
- Colorantes: Hematoxilina de Harris y Eosina
- Láminas portaobjetos y laminillas cubreobjetos
- Micrótopo
- Cuchillas
- Baño María
- Estufa

d) Materiales para evaluación serológica

- Kit de ELISA competitivo de Laboratorios IDEXX
- Lector de Elisa modelo LX800 Biotek Instruments, Inc
- Computadora e Impresora
- Software Xchek
- Micropipetas multicanal regulables para 25, 50, 100 y 200 microlitros
- Tips para micropipetas
- Dispensores

- Cronómetro

e) Material fotográfico

- Microscopio Zeiss Axiostar Plus
- Cámara fotográfica digital marca Kodak

2 MÉTODOS

2.1 Tamaño muestral

El tamaño muestral fue calculado utilizando el teorema del límite central donde $n \geq 30$. De acuerdo a esto se usaron 300 pollas de postura divididos en tres grupos de 100 pollas.

2.2 Diseño experimental

El estudio comprendió tres grupos de 100 aves cada uno:

Grupo A: Aves vacunadas dos veces (9 y 24 días) con una vacuna intermedia intermedia aplicada vía gota ocular, el cual no fue desafiado.

Grupo B: Aves vacunadas dos veces (9 y 24 días) con una vacuna intermedia intermedia aplicada vía gota ocular y desafiadas a los 32 días de edad con la cepa F52/70 por la ruta ocular.

Grupo C: Aves no vacunadas contra la enfermedad de Gumboro (Control), y desafiadas a los 32 días de edad con la cepa F52/70 por la ruta ocular.

Los tres grupos fueron criados en ambientes totalmente separados desde el primer día de edad. A los 35 días, los grupos B y C fueron trasladados a la Unidad experimental del Lab. De Pat. Aviar para su desafío.

2.3 Cronograma integral de vacunación

Día	Vacuna intermedia		Control
	Grupo A	Grupo B	Grupo C
1	Newcastle y Bronquitis infecciosa vía aspersión		
	Vacuna contra coccidia 30 uL vía ocular		
	Marek HVT, 0.2 ml subcutáneo		Sin vacuna
9	1ª dosis vacunación contra la enfermedad de Gumboro, 30 uL vía ocular		
14	2ª dosis vacunación contra la enfermedad de Newcastle y Bronquitis Infecciosa, 30 uL de cada una, vía ocular		
24	2ª dosis vacunación contra la enfermedad de Gumboro, 30 uL vía ocular		Sin vacuna
30	3ª dosis vacunación contra la enfermedad de Newcastle y Bronquitis Infecciosa, 30 uL de cada una, vía ocular		
42	Coriza Infecciosa intramuscular pierna		
	Difteroviruela aviar punción alar		

2.4 Cronograma de actividades a lo largo del estudio

Días	Vacuna intermedia intermedia		Control
Grupo	A	B	C
Nº aves	100	100	100
1	Evaluación serológica por ELISA contra el virus de la enfermedad de Gumboro		
9	1ª dosis: Gumboro (vía ocular)	1ª dosis: Gumboro (vía ocular)	Sin vacuna
24	2ª dosis: Gumboro (vía ocular)	2ª dosis: Gumboro (vía ocular)	Sin vacuna
32	No desafiado	DESAFIO: 60 uL (10 ⁴ DIE50) de una cepa clásica F52/70 vía ocular	
35	Evaluación serológica por ELISA contra el virus de la enfermedad de Gumboro Evaluación de signos clínicos y mortalidad Evaluación de lesiones macroscópicas y microscópicas post desafío		
37	Evaluación de signos clínicos y mortalidad Evaluación de lesiones macroscópicas y microscópicas post desafío		
39	Evaluación de signos clínicos y mortalidad Evaluación de lesiones macroscópicas y microscópicas post desafío		
42	Evaluación de signos clínicos y mortalidad Evaluación de lesiones macroscópicas y microscópicas post desafío		
53	Evaluación serológica por ELISA contra el virus de la enfermedad de Gumboro		

2.5 Desafío experimental

A los 32 días de edad las aves del grupo B y C fueron desafiadas por vía ocular con una dosis de 60 uL (10⁴ DIE50) de una cepa clásica F52 /70 del virus de Gumboro (proporcionada por la Dra. Jane Cook, Laboratorios Intervet, Holanda).

2.6 Parámetros de evaluación

A. Signos clínicos y mortalidad

Posterior al desafío las aves fueron examinadas clínicamente durante 21 días registrándose la mortalidad, depresión, diarrea y cualquier otro signo clínico.

A las aves muertas se les realizó la necropsia para determinar la causa de muerte.

B. Evaluación de las lesiones macroscópicas y microscópicas

Para la evaluación de lesiones macro y microscópicas, fueron sacrificadas 5 aves por grupo a los 35, 37, 39, 42 y 53 días de edad; En todos los casos se registraron y fotografiaron las lesiones macroscópicas y microscópicas encontradas.

En cuanto a las lesiones macroscópicas se evaluó la bursa de Fabricio determinándose el índice bursal y la relación bursa/bazo en cada caso.

B.1 Índice bursal (IB)

Determina la proporción del peso de la Bursa de Fabricio con respecto al peso corporal, el cual es empleado para determinar la presencia o no de atrofia de este órgano (Vidal, 2006) La fórmula es la siguiente (Giambrone, 1987; Ismail, 1991):

$$\frac{\text{Peso de la bursa (grs)} \times 1000}{\text{Peso corporal (grs)}}$$

El I.B. obtenido fue clasificado según lo descrito por Giambrone (1987)

1.5 – 3.5 = Bursa Normal

0.5 – 1.5 = Atrofia Bursal

≤ a 0.5 = Severa Atrofia Bursal

B.2 Relación Bursa/Bazo

Es un método para evaluar el desarrollo normal de estos órganos linfoides. Una relación bursa/bazo > a 1 significa que la bursa es más grande que el bazo, y < a 1 indica que la bursa es más pequeña. (Sulca, 2005)

B.3 Procedimiento de evaluación de las lesiones microscópicas

Las bursas de las aves colectadas fueron fijadas en formol al 10%, luego fueron procesadas, teñidas con Hematoxilina – Eosina y examinadas al microscopio de luz.

La evaluación se realizó mediante una valoración cualitativa de lesiones en bursa, bazo y timo tomando en cuenta los siguientes scores:

B.3.1 Score de lesiones en bursa (Al Natour, 2004)

Grado 1: No hay lesiones o depleción leve en menos del 10% de los folículos.

Grado 2: Existe depleción de células linfoides en pocos folículos (30%)

Grado 3: Moderada atrofia y/o depleción de células linfoides de los folículos (31-75%)

Grado 4: Severa necrosis y atrofia de células linfoides de todos los folículos (> 75%)

B.3.2 Score de lesiones en bazo y timo (Laboratorio de Histología, Patología y Embriología Veterinaria, 2006)

Grado 1: Normal y/o leve depleción linfoide.

Grado 2: Moderada depleción de células linfoides.

Grado 3: Severa depleción de células linfoides

C. Evaluación Serológica

La evaluación serológica se realizó usando los kits de ELISA competitivo de Laboratorios IDEXX, el lector de Elisa modelo LX800 Biotek Instruments, Inc y se leyeron usando el Software Xchek, exclusivo de la empresa IDEXX. Los puntos a evaluar fueron los siguientes:

- Se evaluó el nivel y uniformidad de anticuerpos contra el virus de la enfermedad de Gumboro mediante la prueba de ELISA en muestras de sangre colectada por punción de la vena alar.

- Se evaluó la inmunidad maternal al primer día de edad en 15 aves sacrificadas de todo el lote.
- Se evaluó la respuesta inmune a la vacunación y reto en 15 aves por grupo inmediatamente antes del desafío y a los 21 días post desafío.

D. Análisis Estadístico

Para el análisis estadístico de variables se utilizó el programa SPSS for Windows, versión 11.5

Se realizó la prueba de Análisis de Varianza (ANOVA) de una sola vía para determinar diferencia estadística significativa para las variables de índice bursal, relación bursa/bazo y .niveles de anticuerpos entre los grupos experimentales.

Para la evaluación de las lesiones histopatológicas de bursa, bazo y timo se realizó la prueba de Kruskal Wallis.

IV. RESULTADOS

1. INMUNIDAD PASIVA

El promedio de los títulos de anticuerpos al primer día de edad, previo a la vacunación, fue de 2008 con un coeficiente de variación de 50.3 para los tres grupos experimentales indicando un nivel y una uniformidad de anticuerpos maternos intermedias.

2. SIGNOS CLÍNICOS Y MORTALIDAD

Después del desafío no se observó mortalidad ni signos clínicos en ninguno de los dos grupos vacunados (A y B) mientras que las aves del grupo C presentaron cuadros de depresión y diarrea a partir de las 48 horas post desafío y una mortalidad total de 61% hasta los 7 días post desafío como se observa en el Cuadro 01.

Cuadro 01. Porcentaje de mortalidad y signos clínicos después del desafío con la cepa F52/70 del virus de Gumboro

	Grupos vacunados		Control no vacunado
	Grupo A (no desafiado)	Grupo B (desafiado)	Grupo C (desafiado)
Mortalidad	0	0	61
Depresión	0	0	85
Diarreas	0	0	90

La recuperación de las aves en el grupo control desafiado se inició a partir del día 5 posterior al desafío, al día 10 las aves se recuperaron totalmente no observándose ningún signo clínico (Cuadro 02 y Figura 01)

Cuadro 02. Presentación de signos clínicos de Gumboro después del desafío en las aves del grupo C (control no vacunado)

	Días post desafío									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Mortalidad	0	0	17	35	6	2	1	0	0	0
Depresión	0	5	38	22	17	12	6	3	0	0
Diarreas	0	8	35	26	20	16	13	6	2	0

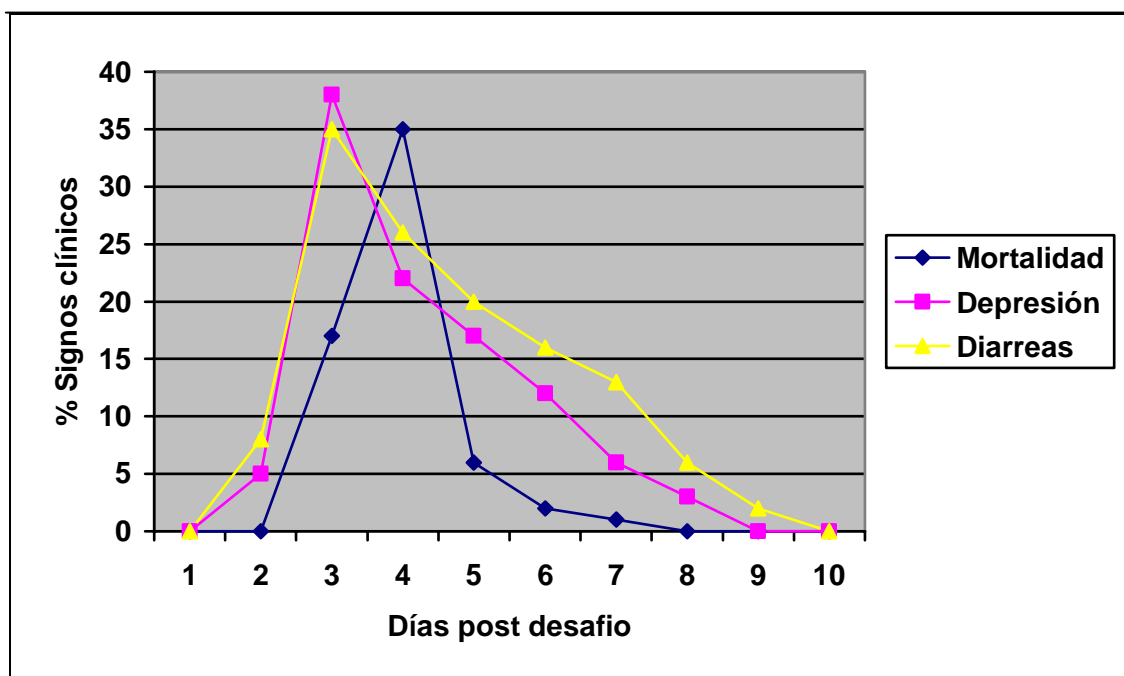


Figura 01: Presentación % de signos clínicos en el grupo C (control no vacunado)

a. LESIONES MACROSCÓPICAS

Las lesiones en el grupo C (control) durante los primeros 7 días post desafío se caracterizaron por edema, hemorragia bursal y bursas con material caseoso en su interior. Además en el grupo C (control) se observaron en las aves muertas durante los primeros 7 días, otras lesiones compatibles con cuadros severos de Gumboro como son,

hemorragias musculares en muslos, necrosis hepática, hemorragias en proventrículo y uratosis renal.

No se observó hemorragias en las bursas de las aves de los grupos A y B, pero si edema a partir del 7mo día (grupo B) y del 10mo día (grupo A). (Cuadro 03)

Cuadro 03. Lesiones macroscópicas en Bursa de Fabricio post desafío

	Días post desafío									
	Edema					Hemorragia				
	3	5	7	10	21	3	5	7	10	21
Grupo A	0/5	0/5	0/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Grupo B	0/5	0/5	1/5	1/5	1/5	0/5	0/5	1/5	0/5	0/5
Grupo C	5/5	5/5	3/5	2/5	3/5	3/5	2/5	1/5	1/5	0/5

Grupo A: no desafiado

b. ÍNDICE BURSAL (IB)

Valores de índice bursal menores a 1.5 fueron considerados como atrofia bursal.

Los índices bursales de las aves del grupo A y B durante todo el experimento estuvieron dentro de los rango de tamaño normal (entre 1.5 y 3.5). En el grupo C (control), el IB fue disminuyendo hasta los 21 días post desafío hasta valores de atrofia bursal. (Ver cuadro 04 y figura 02).

Se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo C y los grupos A y B al día 3 PD. Estos dos grupos no presentaron diferencia significativa entre sí. Al día 5 PD se observó diferencia significativa entre el grupo B y C, ninguno de estos dos grupos presentaron diferencia significativa con el grupo A. Los siguientes días PD no se encontró diferencia significativa entre los tres grupos

Cuadro 04. Índice bursal y atrofia bursal hasta los 21 días post desafío

	Días post desafío									
	Índice bursal					Atrofia bursal				
	3	5	7	10	21	3	5	7	10	21
Grupo A	3.4	2.3	2.1	2.2	2.1	0/5	1/5	2/5	2/5	3/5
Grupo B	3.4	1.8	1.8	1.6	1.5	2/5	2/5	2/5	4/5	5/5
Grupo C	5.6	3.7	1.8	1.6	0.9	0/5	0/5	3/5	4/5	5/5

Grupo A: no desafiado

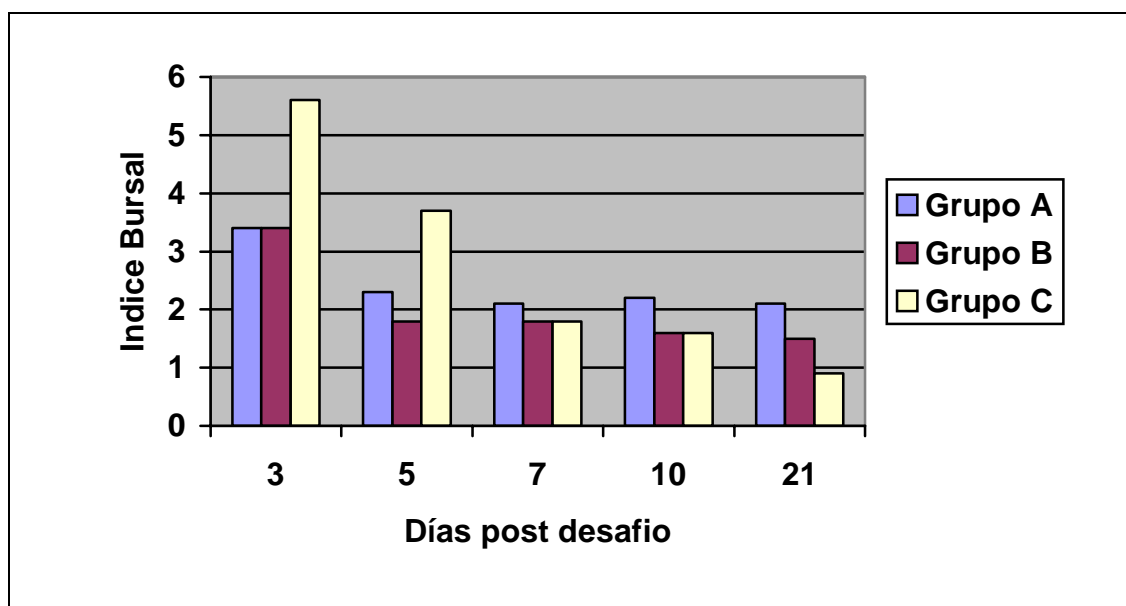


Figura 02: Índice bursal (IB) por grupo hasta los 21 días post desafío

c. RELACION BURSA/BAZO

El grupo A tuvo una relación bursa/bazo de valores normales, reduciéndose gradualmente con la edad. Los grupos B y C sufrieron daño bursal a partir de los 3 días post desafío iniciando con valores de 1.1 y 1.6 respectivamente disminuyendo con los días. (Cuadro 05 y figura 03). Culminado el estudio con valores menores a 1 (21 días post desafío); estos datos se relacionan a los valores de índice y atrofia bursal del cuadro 04.

Estadísticamente, el día 3 y 5 post desafío (PD) hubo diferencia significativa entre el grupo C con los grupos A y B. Estos dos grupos no presentaron diferencia significativa entre sí. Los siguientes días PD no se observó diferencia significativa entre los 3 grupos.

Cuadro 05. Relación Bursa/bazo hasta los 21 días post desafío

	Relación Bursa/bazo				
	Días post desafío				
	3	5	7	10	21
Grupo A	1.1	1.0	0.9	0.8	0.9
Grupo B	1.1	0.8	0.8	0.6	0.6
Grupo C	1.6	1.7	0.7	0.7	0.4

Grupo A: no desafiado

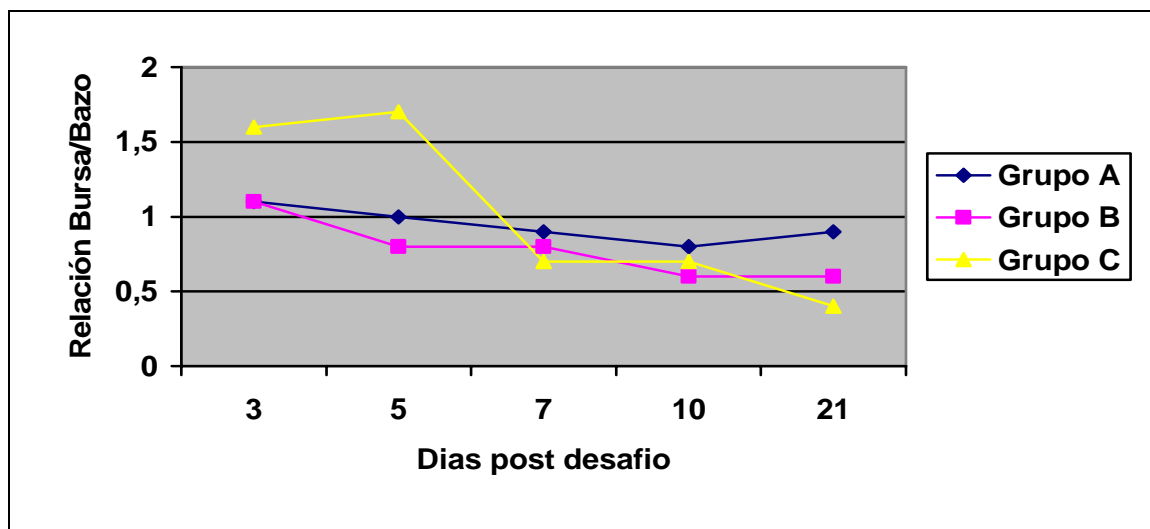


Figura 03 : Relación Bursa/bazo en los grupos experimentales post desafío

d. LESIONES MICROSCÓPICAS

Los tres grupos presentaron lesiones histológicas en bursa mayores a grado 3 al tercer día post desafío (Cuadro 06).

Cuadro 06. Score de lesiones microscópicas en bursa

	Score de lesiones microscópicas en Bursa				
	Días post desafío				
	3	5	7	10	21
Grupo A	3.8	3.0	3.6	3.4	2.4
Grupo B	3.8	4.0	3.0	3.0	3.0
Grupo C	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0

En los tres grupos las lesiones se caracterizaron por una severa necrosis de células y folículos linfoides, edema intersticial, infiltración de heterófilos, hiperplasia del epitelio de revestimiento y formaciones quísticas. Se encontró diferencia estadística significativa entre las lesiones histopatológicas bursales a partir del día 7 días PD

Las lesiones en bazo a los 3 días post desafío (35 días de edad) fueron estadísticamente diferentes en los tres grupos A, B y C. El timo fue afectado solo en el grupo control no

vacunado, observándose lesiones a partir de los días 5 y 7 post desafío. El score de lesiones en los grupos vacunados contra Gumboro demás casos correspondió a un valor de timo normal (Cuadro 07).

Cuadro 07. Score de lesiones microscópicas en bazo y timo hasta los 21 días post desafío.

	Días post desafío									
	Bazo					Timo				
	3	5	7	10	21	3	5	7	10	21
Grupo A	3.0	1.0	2.0	2.0	2.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Grupo B	3.0	2.0	2.0	2.0	2.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Grupo C	3.0	2.0	2.0	2.0	2.0	1.0	2.5	2.0	1.0	1.0

Grupo A: no desafiado

e. RESPUESTA SEROLÓGICA

El promedio de los títulos de anticuerpos al primer día de edad, previo a la vacunación, fue de 2008 con un coeficiente de variación de 50.3 para los tres grupos experimentales indicando un nivel de anticuerpos maternos y una uniformidad de lote intermedias.

Al día 35 de edad (3 días PD), los anticuerpos en los grupos A y B tuvieron una ligera disminución con valores de 1984 y un coeficiente de variación de 51.1 en ambos grupos, mientras que en las aves del grupo C no vacunado no presentaron anticuerpos a esta edad.

Al día 53 de edad (21 días PD), los niveles de anticuerpos medidos según el promedio geométrico total (PGT) en las aves de los grupos A y B aumentaron a 3277 y a 3129, con un CV de 21.8% y 19.7% respectivamente. El grupo C presentó vigoroso aumento en el nivel de anticuerpos, de 54 (35 días de edad) a 3997 (53 días de edad), y una disminución del CV 69.4% (35 días de edad) a 16.7% (53 días de edad) (Ver cuadro 08 y figura 04)

Se encontró diferencia estadística significativa en títulos de anticuerpos al día 35 y 45 de edad entre el grupo C y los grupos A y B

Cuadro 08: Títulos de anticuerpos (PGT) por ELISA en aves desafiadas y no desafiadas con la cepa F52/70 a los 32 días de edad

Edad (días)		Grupo (días de vacunación)		
		A * (9 y 24 d)	B (9 y 24 d)	C (Sin vacuna)
1	PGT	2008	2008	2008
	CV%	50.3	50.3	50.3
32	PGT	1984	1984	54
	CV%	51.1	51.1	69.4
45	PGT	3277	3129	3997
	CV%	21.8	19.7	16.7

PGT: Promedio geométrico de título, CV: Coeficiente de variación
 * Grupo A no desafiado.

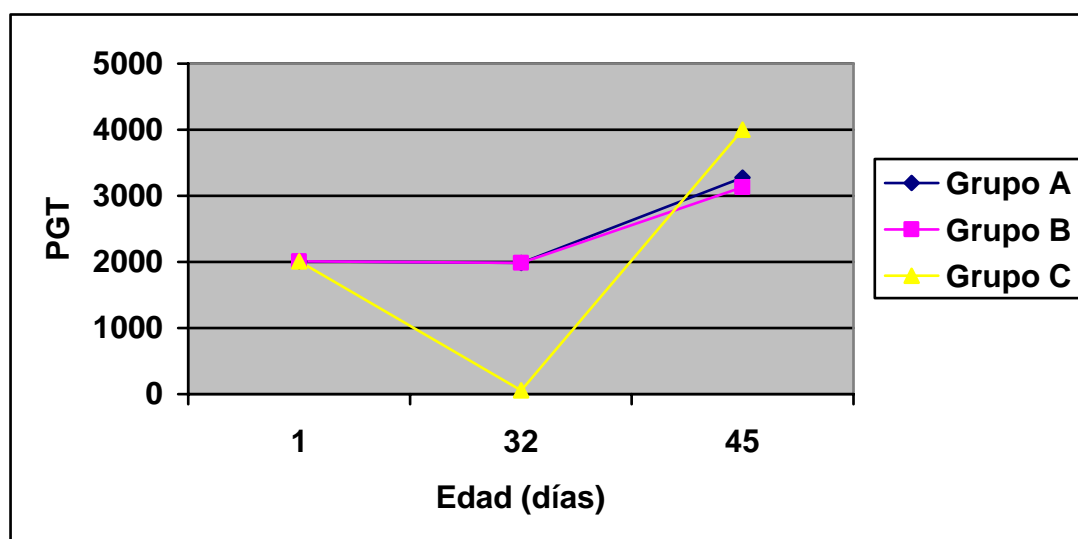


Figura 04: Títulos de anticuerpos (PGT) por ELISA en aves desafiadas y no desafiadas con la cepa F52/70 a los 32 días de edad.

PGT: Promedio geométrico del título
 Grupo A: no desafiado

V. DISCUSIÓN

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la protección, el daño bursal y la respuesta serológica obtenida al aplicar una vacuna intermedia – intermedia contra la Enfermedad Infecciosa de la Bursa en pollas de postura. Según Georgelin (2002), se consideran pollas de postura a aves ponedoras menores de 18 a 20 semanas, edad en que inicia la postura, siendo de estas edades las aves utilizadas en el estudio.

En este estudio realizado bajo condiciones experimentales, contrariamente a lo que ocurre en el campo con los brotes de enfermedad clínica, los grupos A (vacunado y no desafiado) y B (vacunado y desafiado) no presentaron mortalidad ni signos clínicos durante el experimento. Similares resultados han sido reportados por Van der Berg, (1991), Vidal (2005), Remorini, (2006) donde cepas clásicas y de alta virulencia no causaron mortalidad en aves vacunadas. Estas diferencias en el comportamiento clínico de las aves criadas bajo condiciones experimentales se deben a las diferentes condiciones de crianza y de manejo. En la industria, las aves son criadas con una alta densidad poblacional y los factores de stress son frecuentes.

El grupo C no recibió la vacuna y como los resultados muestran en este grupo, post desafío, hubo una alta mortalidad (61%), contrariamente el grupo B vacunado y desafiado no presentó mortalidad al igual que el grupo A vacunado sin desafiar. Altos porcentajes de mortalidad en ponedoras no vacunadas también han sido reportados por Saif (2003). El criterio de mortalidad, Van der Berg (1991) lo considera en pollas de postura como un criterio absoluto para medir la efectividad de las vacunas, mientras que en broilers lo considera relativo. En el grupo no vacunado además se presentaron signos clínicos como diarrea (90%) y depresión (85%) siendo estos dos signos clínicos los principales en la enfermedad de Gumboro según Villegas (2001), Gomes (2005). El grupo B vacunado y desafiado no presentó ningún signo de los descritos lo cual demuestra que estuvo adecuadamente protegido por la vacuna contra IBDV. El

porcentaje de signos clínicos y de mortalidad en el grupo C (no vacunado) concuerda con lo descrito por Van Den Berg (1991) sobre una alta susceptibilidad de las pollas de postura hacia el virus de Gumboro por su genética y por ser aves de crecimiento lento.

Al observar la figura 01, en el grupo C (control) se observa que la enfermedad de Gumboro produce un pico de “enfermedad” y mortalidad entre los 5 a 6 días posterior al desafío y luego va disminuyendo hasta el día 10, al mismo tiempo que las aves se recuperaron de los signos clínicos. Este comportamiento de la enfermedad concuerda con lo descrito por varios autores como Eidson (1980), Saif (2003), Sulca (2005).

Referente a lesiones un gran porcentaje de aves del grupo C no vacunado mostraron durante los primeros 7 días post reto, edema y hemorragias en bursa de fabricio con presencia de material caseoso, disminuyendo el número de casos a medida que avanzaban los días, además fueron observadas otras lesiones características de la enfermedad de Gumboro en un grado severo, las cuales consistieron de hemorragias musculares principalmente en muslos, necrosis hepática, hemorragias en proventrículo y uratosis renal en las aves muertas durante los primeros 7 días. Se ha señalado que estas últimas lesiones son vistas con menor frecuencia (Ley, 1983; González, 2005). En el grupo B vacunado y desafiado, muy pocas aves presentaron este tipo de lesiones pero en grado leve, lo que indicaría un menor impacto del desafío sobre las aves de este grupo demostrando protección por la vacuna. Una ave del grupo A vacunado y no desafiado presentó edema bursal a los 42 días de edad, esto probablemente como consecuencia de la replicación virus vacunal. Es conocido que las vacunas vivas conteniendo cepas intermedias con virus completo causan algún grado de daño bursal. Van der Berg (1991)

Después de los 7 días post desafío, al igual como lo describe Saif (2003), todos los grupos mostraron algún grado de atrofia bursal. El grupo B presentó edema bursal a partir del día 7 PD pero de menor intensidad que el grupo C, lo que indicaría cierto impacto del desafío que fue controlado por la vacuna aplicada a estas aves.

El índice bursal (IB) es usado para determinar atrofia de bursa que puede ser causada por virus de Gumboro de campo, vacunales e inclusive algún otro agente inmunosupresivo como agentes tóxicos alimenticios (micotoxinas) o factores de stress (Sulca, 2005).

En el grupo A (vacunado, no desafiado) y B (vacunado y desafiado), durante todo el experimento, se obtuvieron índices bursales dentro del rango de normalidad (entre 1.5 y 3.5). En el grupo C (sin vacuna, desafiado), el IB fue disminuyendo hasta valores

promedios que a los 21 días post desafío indicaron atrofia bursal, observándose en el grupo C una caída de IB severa. El más alto valor de índice bursal fue observado en el grupo C al día 3 PD (5.6), lo cual fue debido al edema bursal previo a la atrofia, ya que este mismo grupo presentó a su vez el menor índice bursal al día 21 PD (0.9), que dentro de los rangos de la tabla usada en este experimento concuerda con atrofia bursal, además que comparado con los índices bursales alcanzados en este día por los otros 2 grupos fue bastante bajo. Estos cambios morfológicos de la bursa durante el curso de la enfermedad de Gumboro que comienzan con un aumento del tamaño bursal y luego con una atrofia bursal concuerdan con lo descrito por Lukert y Saif (2003).

Las aves del grupo B presentaron una disminución del índice bursal post desafío hasta un valor de 1.8, pero nunca llegaron a los rangos de atrofia, esto se explica porque este grupo fue vacunado y el virus de desafío causó un daño pero limitado por la protección inmunológica que tenían las aves. Esto concuerda con los estudios realizados por Babaahmady (2002), mas, individualmente 2 de éstas bursas presentaron atrofia desde el día 3 PD, se corresponde a la presencia de 3 bursas que presentaron edema por lo que su tamaño estaba aumentado (IB más alto) mientras que las 2 restantes no se edematizaron y tenían menor tamaño relacionado al tamaño del bazo (IB menor), al hacer un promedio de los IB de éstas muestra un valor dentro del rango de IB normal. (Ver cuadro 04)

Comparando el número de aves con atrofia en los grupos vacunados, se observó el doble de aves con atrofia a partir del día 10 PD en el grupo B desafiado, que en el grupo A no desafiado, lo cual demuestra que las aves del grupo A tuvieron una atrofia fisiológica normal como consecuencia de la vacuna y que no fueron expuestas al virus patogénico. Una atrofia fisiológica normal en pollas de postura como consecuencia del uso de cepas vacunales intermedias ha sido descrita por Perozo-Marín (2006).

En una relación bursa/bazo adecuada en pollas de postura, el tamaño de la bursa debe ser mayor al del bazo hasta los 30 – 35 días. (Perozo-Marín, 2006), el virus de Gumboro invierte esta relación.

El grupo A mantuvo una relación bursa/bazo en valores aceptables (0.9) observándose una disminución de esta relación con la edad debido a la atrofia fisiológica de la bursa. A los 21 días post desafío las aves de los grupos desafiados B y C tuvieron una relación bursa/bazo con un valor de 0.6 y 0.4 respectivamente, lo cual fue se correlaciona a la atrofia bursal observada en ambos grupos.

La lesión histopatológica predominante durante el estudio fue la necrosis linfoide en la bursa de Fabricio, esto se correlaciona con lo descrito por varios autores como Ley (1983), González (2005).

Las aves de todos los grupos, durante todos los días en que se le realizó la evaluación histopatológica, presentaron los mayores escores de lesiones independientemente de si fueron vacunados o no. Estos resultados se explicarían por lo descrito por Van der Berg (1991) quien atribuye este daño a la alta susceptibilidad de las pollas de postura al IBDV. Al observarse que el grupo A también tiene scores altos y este grupo no se desafió, este daño bursal se debería a la vacuna aplicada demostrando que la vacuna causa daño bursal en las pollas. Los exámenes histopatológicos demostraron también una recuperación del daño bursal en las aves del grupo B al observarse una disminución en el score de lesiones a partir del día 5to post desafío, lo que no fue observado en el grupo control no vacunado. Esta recuperación de la bursa luego de un desafío con IBDV ha sido descrita por Saif (2003). El grupo C presentó el mas alto score de lesiones microscópicas durante todo el experimento demostrando estar sin protección contra la enfermedad de Gumboro.

En líneas generales, las observaciones microscópicas se corresponden al estudio realizado por Ley (1983), en el cual la citoarquitectura del órgano va cambiando según avanzan los días post-desafío.

El bazo, el día 3 PD mostró un score de 3 debido al desafío por una reacción de depleción linfoide violenta, luego durante el experimento se mantuvo con score de 2, demostrando haber sido afectado por el virus pero en menor grado. El timo mostró muy poco ser afectado con excepción del grupo C en los días 5 y 7 PD obteniéndose un score de 2. Cabe recordar que este grupo no fue vacunado por lo que probablemente el daño a este órgano se deba a una respuesta del organismo contra el virus de la enfermedad de Gumboro.

Finalmente se observa que aun cuando las vacunas intermedias en ponedoras producen cierto nivel de daño bursal sin embargo protegen contra el desafío de campo, lo que concuerda con lo descrito por Sánchez (1994); Tsukamoto (1995) siendo especialmente la cepa de vacuna utilizada 2512 poco virulenta pero muy antigénica.

La serología sirve para medir la respuesta serológica de las aves contra la enfermedad. En el presente estudio, se evaluó la inmunidad humoral por la prueba de ELISA a los días 1, 32 y 45 días de edad.

El promedio geométrico de anticuerpos al primer día de edad, previo a la vacunación, fue de 2008 con un coeficiente de variación de 50.3 para los tres grupos experimentales indicando intermedio nivel y uniformidad de anticuerpos maternos, se ha observado en otras prueba de ELISA en ponedoras que la uniformidad y el nivel de anticuerpos son de nivel intermedio posiblemente por las condiciones de crianza de múltiples edades que determina diferentes grados de exposición a agentes, cuando se mezclan aves mayores con menores según González (2007), además que este lote de pollas provenía de madres jóvenes por lo que la transferencia maternal es menor tal como lo explica Morales (2004) .

El día 32 (día del desafío) los grupos A y B presentaron un PGT de 1984 y un CV de 51.1 que se encuentra dentro de los valores normales por la vacunación, y como lo demostró Sánchez (1992) la vacuna con la cepa 2512 no anuló los anticuerpos maternos. El grupo C, el cual presenta un PGT de 54, este valor se debe a la disminución normal de anticuerpos maternos. Al día 10 PD se observa aumento de los anticuerpos en los tres grupos, en el grupo A como consecuencia de una respuesta a la vacunación y en los grupo B y C control como seroconversión en respuesta al desafío, sin embargo, el PGT del grupo B (vacunado, desafiado) tiene un resultado diferente al esperado en relación al grupo A, ya que éste grupo debería presentar el PGT y el CV más alto debido al desafío.

VI. CONCLUSIONES

- Las pollas de postura sin una adecuada protección vacunal demostraron ser muy susceptibles al virus de la enfermedad de Gumboro produciéndose signos clínicos característicos de la enfermedad como mortalidad, depresión y diarreas, presentándose el mayor número de aves enfermas entre los días 3 a 7 PD.
- La vacunación de aves de postura contra la enfermedad de Gumboro en un programa de dos vacunas intermedias intermedias aplicadas a los 9 y 24 días de edad por la ruta ocular, protegió eficientemente contra el desafío de campo no observándose signos clínicos compatibles con la enfermedad de Gumboro ni mortalidad en los grupos vacunados.
- La vacunación con vacunas intermedias intermedias producen lesión bursal por la vacunación en sí, debido a la replicación del virus vacunal en la bursa de Fabricio. Los tres grupos se ubicaron en los scores más altos siendo la lesión macroscópica más frecuente el edema y la atrofia bursal y la lesión microscópica necrosis de células y folículos linfoides, edema intersticial e infiltración de heterófilos.
- El índice bursal sigue el pico de “enfermedad” en los grupos desafiados, al día 3 aumenta por encima del rango normal (1.5 a 3.5) debido al edema bursal, y luego del día 7 comienza a disminuir para ubicarse dentro del rango de atrofia bursal (0.5 a 1.5 en IB), En el grupo B, esta variación en el transcurrir los días PD es menos severo que en el grupo C demostrando la eficacia de la vacuna contra el desafío.

- A los 45 días de edad, el grupo C (no vacunado y desafiado) mostró los más altos promedios de títulos (PGT 3997) y el CV más estrecho (16.7), lo que demuestra una mayor respuesta serológica contra el virus de desafío en las aves de este grupo en comparación a los grupos vacunado-no desafiado (PGT 3277; CV 21.8) y vacunado-desafiado (PGT 3129; CV 19.7), es decir, la vacuna neutraliza el virus evitando una producción de anticuerpos exagerada dando una mayor protección al ave.
- Se concluye que las pollas de postura son susceptible al virus de Gumboro, a pesar de la vacunación, la vacuna intermedia - intermedia protege contra el desafío de campo, sin embargo, produce daño bursal,

VII. BIBLIOGRAFÍA CITADA

1. Abbas AK, Murphy KM, Sher A. Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature* 1996; 383, 787-93
2. ACL. 2003. La nueva generación de productos para la protección de la progenie contra IBF. 1er Taller de Gumboro. Trujillo-Perú.
3. Al Natour, M. 2004. Effect of Different Levels of Maternally Derived Antibodies on Protection Against Infectious Bursal Disease Virus. Research Note. *Avian Diseases* N°48. EEUU. Pp. 177 – 182.
4. Alam, J. 2002. Effect of maternally derived antibody on vaccination against infectious bursal disease (Gumboro) with live vaccine in broiler. *International Journal of Poultry Science* N° 4. Pp 98 – 101.
5. Babaahmady, E. 2002. Enfermedad infecciosa de la bolsa: efecto inmunosupresor en pollos de engorde. *Rev. Cubana de Ciencia Avícola* N°26. Pp 129- 135.
6. Babaahmady, E. 2005. Enfermedad de Gumboro. Histopatología de la Bursa de Fabricio en la enfermedad natural y experimental en pollos de engorde. *Revista Electrónica de Veterinaria REDVET*. Vol VI N° 3.
7. Banda, A; P. Villegas y J. El-Attrache. 2003. Molecular Characterization of Infectious Bursal Disease Virus from Commercial Poultry in the United States and Latin America. *Avian Diseases* 47. Pp 87 – 95.
8. Banda, A; P. Villegas. 2004. Genetic Characterization of very virulent Infectious Bursal Disease Viruses from Latin America. *Avian Diseases* 48. pp 540 –549.
9. Banda, Alejandro. 2006. Situación Global del IBF. El libro blanco de la Enfermedad de Gumboro. Unidad de Avicultura de Laboratorios Hipra SA. Págs 15 – 18

10. Bernardino, A. 2003. Consideraciones sobre el problema de enfermedad de Gumboro en el campo. 1er Taller de Gumboro. Trujillo-Perú.
11. Biarnés, M. 2006. Enfermedades víricas generalizadas. Higiene y Patología Aviar. Capítulo 10. Real Escuela de Avicultura. Segunda Edición. Pp 161 – 170.
12. Borne, P; S. Comte.2003.Vacinação. Vacinas e Vacinação na produção avícola. CEVA Sante Animale. Brasil.
13. Caceci, T. 2005. Spleen and Other Lymphatic Organs. Exercise 13. Veterinary Histology. Disponible en: <http://education.vetmed.vt.edu/Curriculum/VM8054/Labs/Lab13/Lab13.htm>
14. Cardoso, B. 2002. Enfermedad de Gumboro: El Desafío de la Vacunación. Mundo Avícola & Porcino. Sanidad Avícola. Información Oficial Asociación Peruana de Porcicultores. Perú. N° 40. Pág 29 – 32.
15. Castro-Pozo, X. 1994. Evaluación de Parámetros Productivos y respuesta inmune en pollos de engorde vacunados con dos programas de vacunación contra la enfermedad de Gumboro. Tesis para optar el Título Profesional de Médico Veterinario. FMV- UNMSM. Lima - Perú
16. Castro – Pozo, X. 2007. Programas de vacunación contra Gumboro de acuerdo a la situación peruana. Cevac Gumboro Tour. Gira latinoamericana. Lima – Perú.
17. Chevalier, C.2005. Structural peptides of a non enveloped virus are involved in assembly and membrane translocation. Abstract J. Virol. 79(19). Pp 12253 – 12263.
18. Cookson, K. 2003. Uso del Análisis Computarizado de imágenes para establecer la ventana de infección y el tiempo apropiado para la vacunación con virus activo contra la infección de la bolsa de Fabricio. Primer Taller de Gumboro. Trujillo – Perú.
19. Cookson, 2007. Phylogenetic analysis of very virulent, classic and variant infections bursal disease virus from Central and South America. 56th Western Poultry Disease Conference. EEUU.
20. Corley, M. 2002. Evaluation of the immune response and detection of infectious bursal disease viruses by reverse transcriptase-polymerase chain reaction and enzyme-linked immunosorbent assay after in ovo vaccination of commercial broilers. Avian Diseases N° 46. Pp 803 – 809.

21. Corley, M. 2002. Immunosuppression in specific pathogen free broilers administered infectious bursal disease virus vaccines by in ovo route. *Avian Diseases* N° 46. Pp 810 – 815.
22. De Herdt, P. 2005. Evaluation of the enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies against infectious bursal disease virus (IBDV) and the estimation of the optimal age for IBDV vaccination in broilers.
23. De Wit, J. 2001. Estimation of optimal time of vaccination by the Deventer Formula. *Gumboro Disease. Annual report and proceedings of COSTAction 839: Immunosuppressive viral diseases*. Deventer, the Netherlands. Pp 170- 178.
24. Di Fábio, J. 2006. Situación de la enfermedad de Gumboro en Brasil. *El libro blanco de la Enfermedad de Gumboro*. Unidad de Avicultura de Laboratorios Hipra SA. Págs 71 – 74.
25. Eidson, C. 1980. Comparison of inactivated and live infectious bursal disease virus vaccines in white Leghorn breeder flock. *Poultry Science* Vol 59 N° 12. Pp 2708 – 2716.
26. Fernández, R. 2006. La Enfermedad de Gumboro. Observaciones clínicas, prevención y control. *Revista Mundo Veterinario*. Publicación oficial de ALAVET. Lima – Perú. Año 4, N° 16. Págs 36 – 38.
27. Flamenco, V. 2007. Situation of infectious bursal disease virus in Central America. 56th Western Poultry Disease Conference.
28. Gay, M. 2002. Protección conferida por vacunas emulsionadas contra un aislamiento local del virus de Gumboro. XXVII Convención Anual ANECA. Mexico.
29. Georgelin, M. 2002. La ponedora Isabrown. Manejo de la madurez sexual, del tamaño del huevo y de la calidad de la cáscara. ISA.
30. Giambrone, J. 1987. Evaluación y relaciones morfométricas en la Enfermedad Infecciosa de la bursa como método de diagnóstico. Publication: The American Association of Avian Pathology. Georgia. USA. 24 – 38.
31. Giambrone, J. 2006. Approaches of Infectious Bursal Disease Virus Induced Immunosuppression. Impact of Subclinical Immunosuppression on Poultry Production. Symposium AAAP. Pp 28 – 31.
32. Gomes, A. 2005. Genotyping of infectious bursal disease virus strains by restriction fragment length polymorphism analysis of the VP1, VP2 and VP3 genes. *Avian Diseases* N° 49. Pp 500 – 506.

33. Gonzáles, R. 2005. Frecuencia y caracterización de lesiones anatómo-patológicas en la enfermedad de Gumboro y enfermedades secundarias asociadas en nuestras condiciones ambientales. Estudio retrospectivo. Revista Electrónica de Veterinaria REDVET. Vol VI N° 10.
34. González, R. 2007. Comunicación oral.
35. Hoerr, F. 2006. Impact of subclinical inmunosupresión on poultry production: clinical importante of inmunosupressive viruses. Impact of Subclinical Inmunosupression on Poultry Production. Symposium AAAP. Pp 15 – 17.
36. Hy-Line. 2005. Hy-Line variedad Brown. Guía de manejo comercial 2005 – 2007. Hy-Line International. Pp 7.
37. Icochea, E. 2002. Identificación de virus de la Enfermedad de Gumboro en el Perú por ELISA de captura de antígeno. XXVII Convención Anual ANECA. México.
38. Icochea, E. 2004. Infección bursal (IBD), Virus de Infección Bursal (IBDV) Enfermedad de Gumboro. Clase de pre – grado. Facultad de Medicina Veterinaria. UNMSM.
39. Ismail, N. 1991. Immunogenicity of infectious bursal disease viruses in chickens. Avian Disease N° 35. Pp 460 – 469.
40. Jackwood, D.; Sommer, E. 2002. Virulent strains of infectious bursal disease virus not distinguishable from wild-type viruses with the use of a molecular marker. Research Note. Avian Diseases N° 46. Pp 1030 – 1032.
41. Jackwood, D. 2006. Epidemiology if infectious bursal disease. Impact of Subclinical Inmunosupression on Poultry Production. Symposium AAAP. Pp 19 – 21.
42. Jagdev M. 2006. Mechanisms of infectious bursal disease virus induced inmunosupresión. Impact of Subclinical Inmunosupression on Poultry Production. Symposium AAAP. Pp 25 – 26.
43. Kreager, K. 2006. Optimal time for Gumboro Vaccination. Technical Bulletin. Hy-Line International.
44. Ley, D. 1983. The Pathogenesis of Infectious Bursal Disease: Serologic, Histopathologic and Clinical Chemical Observations. Avian Diseases Vol 27 N° 4. Pp 1060 – 1085.

45. Lombardo, E. VP5, the nonstructural polypeptide of infectious bursal disease virus, accumulates within the host plasma membrana and induce cell lysis. Abstract Virol. 277(2). Pp 345-357.
46. Lucio-Martínez, B. 2002. Alternativas de prevención y control de la infección de la bolsa de Fabricio. 1er Seminario Internacional AMEVEA Perú.
47. Maas, R. 2001. Efficacy of inactivated infectious bursal disease (IBD) vaccines: comparison of serology with protection of progeny chickens against IBD virus strains of varying virulence. Avian Pathology N° 30. Pp 345 – 354.
48. Morales, O. 2004. Enfoque epidemiológico del control de la enfermedad de Gumboro. Lohmann Animal Health Internacional. USA.
49. Mosmann TR, Coffman RL. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. Ann Rev Immunol 1989;7 145-73.
50. Pagés-Manté, A.; D. Torrents. Abril 2004. Dogs as potential carriers of infectious bursal disease. Avian Pathology. 33(2). Pp 205 – 209.
51. Paredes, W. 2006. Evaluación de la protección conferida por un programa de vacunación contra la enfermedad de Gumboro en pollos de carne aplicando la fórmula de Deventer. Tesis para optar el Título de Médico Veterinario. FMV-UNMSM. Lima- Perú
52. Perozo-Marín, F. 2006. Caracterización morfométrica de los órganos linfoides en pollos de engorde de la línea Ross criados bajo condiciones de campo en el estado de Zulia, Venezuela.
Disponible en: http://www.serbi.luz.edu.ve/pdf/rc/v14n3/art_05.pdf
53. Piña, E. 2003. vvIBDV ahora en Venezuela: país tras país, el virus hipervirulento de Gumboro está invadiendo el continente americano. Avicultura Profesional. Vol 21, N° 1 / 2. Pág 24.
54. Quezada, J. 2003. Respuesta inmunológica a vacunas de combinación múltiple. XIV Seminario Avícola. AMEVEA. Bogotá - Colombia. Págs. 116 – 120.
55. Rautenschlein, S. 2003. Comparative immunopathogenesis of mild , intermediate and virulent strains of classic infectious bursal disease virus. Avian Diseases N° 47. Pp 66 – 78.
56. Rautenschlein, S. 2005. Protective efficacy of intermediate and intermediate plus infectious bursal disease virus (IBDV) vaccines against very virulent IBDV in commercial broilers. Avian Diseases N° 49. Pp 231 – 237.

57. Rauw,F.; B. Lambrecht. 2006. Bursitis infecciosa: patogénesis e inmunosupresión. El libro blanco de la Enfermedad de Gumboro. Unidad de Avicultura de Laboratorios Hipra SA. Págs 27 – 33.
58. Remorini, P. 2006. Characterization of infectious bursal disease viruses from Argentina. Avian Diseases N° 50. Pp 245 – 251.
59. Robinette, A. 2002. Autogeneous IBD vaccines: techniques for isolating “new” IBD strains which are not protected by maternal immunity. XXVII Convención Anual ANECA. Mexico.
60. Rodríguez – Chávez, I. 2002. Characterization of the antigenic, immunogenic and pathogenic variation of infectious bursal disease virus due to propagation in different host systems (bursa, embryo and cell culture).I. Antigenicity and immunogenicity. Avian Pathology N° 31. Pp 463-471.
61. Rogmanani S. Biology of human Th1 and Th2 cells. J Clin Immunol 1995: 15; 1 21-997.
62. Saif, Y. 2003. Vacunas y vacunación contra la enfermedad de Gumboro. Guía Anual 2003. Manejo. Mundo Avícola & Porcino. Revista Mundo Veterinario. Publicación oficial de ALAVET. Lima – Perú. N° 43. Págs 7 - 8.
63. Saif, Y ; P. Lukert. 2003. Infección de la Bolsa de Fabricio. Enfermedades de las aves. Segunda Edición en Español. Ed. El Manual Moderno. México. Capítulo 29. Págs 739 – 751.
64. Saif Y. 2006. Tipos antigénicos del virus de la enfermedad de Gumboro. El libro blanco de la Enfermedad de Gumboro. Unidad de Avicultura de Laboratorios Hipra SA. Págs 21– 25.
65. Sánchez, C. 1994. Evaluación de dos cepas vacunales del virus de la infección de la bolsa de Fabricio (IBF) en pollos de engorda comerciales. Departamento de aves FMVZ UNALM.
66. Saubi, N. 2002. Utilización de proteínas recombinantes en una vacuna inactivada contra la enfermedad de Gumboro. XXVII Convención Anual ANECA. Mexico
67. Sharma, J. 2001.Marek – Gumboro: Vacunación in ovo. Congreso LA Avicultura Guatemala.
68. Sharma, J. 2002. Field trial in commercial broilers with a multivalent in ovo vaccine comprising a mixture of live viral vaccines against Marek’s disease,

- infectious bursal disease, Newcastle disease and Fowl pox. Avian Diseases 46. Pp 613 – 622.
69. Sulca, I. 2005. Enfermedad de Gumboro, principal agente inmunosupresor en las aves. Tesina para optar el título profesional de Médico Veterinario. FMV-UNMSM.
70. Tizard, I. 2002. Órganos del sistema inmunitario. Inmunología Veterinaria. Capítulo 8. Sexta Edición. Editorial Mc Graw Hill Interamericana. Pág 74-89.
71. Toscano, C. Determinación del daño a la bolsa de Fabricio causada por la aplicación de vacunas a virus vivo con cepas intermedias, así como la protección al desafío. XXVII Convención Anual ANECA. México.
72. Tsukamoto, K. 1995. Efficacy of three live vaccines against highly virulent infectious bursal disease virus in chickens with or without maternal antibodies. Avian Diseases N° 39. Pp 218 – 229.
73. UNALM. 1999. Manual de producción de gallinas ponedoras. De: Portal Agrario – MINAG. Disponible en: <http://www.minag.gob.pe>.
74. Van der berg, T. 1991. Acute infectious bursal disease in poultry: protection afforded by maternally derived antibodies and interference with live vaccination. Avian Pathology Vol 20. Pp 409 – 419.
75. Van der Berg, T. 1991. Acute infectious bursal disease in poultry: isolation and characterisation of a highly virulent strain. Avian Pathology Vol 20. Pp 133 -143
76. Van der Berg, T. 2000. Acute infectious bursal disease in poultry: a review. Review Article. Avian Pathology N° 29. Pp 175 – 194.
77. Vasconcelos, A. 2007. Apoptosis and alteration in parenchyma/stroma ratio in lymphoid tissues of chicken inoculated with the infectious bursal disease virus. 56th Western Poultry Disease Conference. EEUU.
78. Vervelde, L. 1997. Comparison of the *in situ* changes in lymphoid cells during infection with infectious bursal disease virus in chickens of different ages. Avian Pathology N° 26. Pp 803 – 821.
79. Villegas, P. 2001. Control de la enfermedad infecciosa de la bolsa y de la anemia infecciosa aviar. Congreso LA Avicultura Guatemala.
80. Vidal, K. 2006. Evaluación de dos vacunas comerciales contra la infección bursal conteniendo el complejo antígeno anticuerpo en pollos de carne. Tesis para optar el Título de Médico Veterinario. FMV – UNMSM. Perú.

81. Wakenell, P. Impact of subclinical immunosuppression on poultry production: induction of immune responses. Impact of Subclinical Immunosuppression on Poultry Production. Symposium AAAP. Pp 5 - 10
82. Yehuda, H.; M. Goldway. 2000. Transfer of antibodies elicited by baculovirus-derived VP2 of a very virulent bursal disease virus strain to progeny of commercial breeder chickens. Avian Pathology N° 29. Pp 13 – 19
83. Yuasa, N. 1979. Effect of infectious bursal disease on incidence of anemia by chicken anemia agent. Avian Diseases Vol 24 N° 1. Pp 202-209.

VIII. APÉNDICE

Apéndice 1. Signos clínicos en las pollas del grupo control

Apéndice 2. Lesiones bursales macroscópicas

Apéndice 3. Otras lesiones compatibles con Gumboro presentadas en pollas del grupo control

Apéndice 4. Grados de score bursal

Apéndice 5. Tabla de scores de bursa según el número de días post-desafío

Apéndice 6. Lesiones bursales microscópicas

Apéndice 7. Tabla de scores de bazo según el número de días post-desafío

Apéndice 8. Tabla de scores de timo según el número de días post-desafío

Apéndice 1. Signos clínicos en pollas del grupo control



Presencia de mortalidad a los 3 días post desafío.



Presencia de depresión y diarrea a los 3 días post desafío

Apéndice 2. Lesiones bursales macroscópicas

Grupo control 3 días post desafío

Bursas aumentadas de tamaño, con hiperemia y edema con trasudado amarillento gelatinoso en la superficie serosa. Presencia de hemorragias petequiales hasta extensa.



Grupos A, B y C 5 días post desafío (A: vacunado no desafiado; B: vacunado, desafiado; C: no vacunado, desafiado)

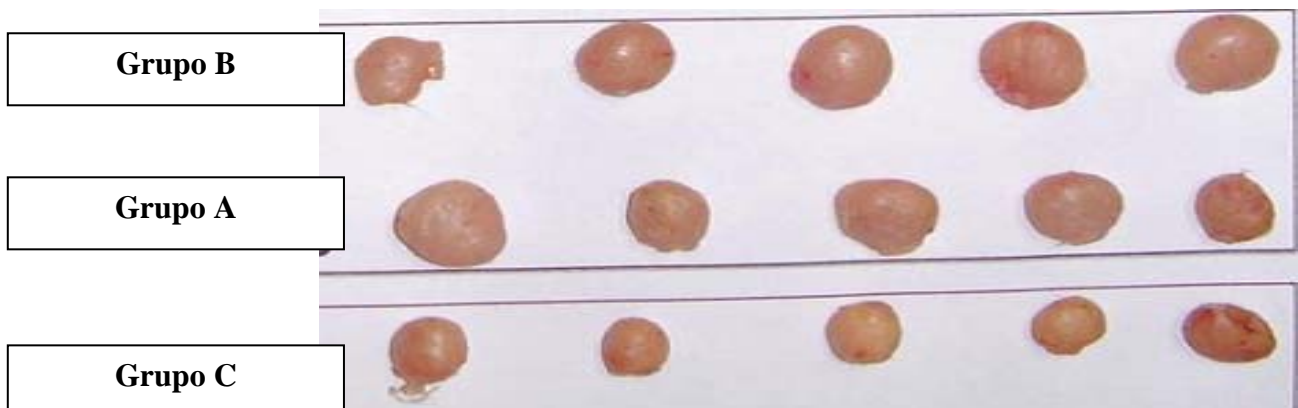
Grupo A: algunas bursas en proceso de regresión mientras otras presentan aumento de tamaño bursal.

Grupo B: las bursas retornan a su tamaño normal mientras que en el grupo C, las bursas siguen aumentadas de tamaño con presencia de trasudado amarillento.



Grupos A, B y C 7 días post desafío (A: vacunado no desafiado; B: vacunado, desafiado; C: no vacunado, desafiado)

Bursas del grupo C, atróficas en comparación de los otros 2 grupos que mantienen la bursa de tamaño normal o ligeramente aumentadas.



Grupos A, B y C 10 días post desafío (A: vacunado no desafiado; B: vacunado, desafiado; C: no vacunado, desafiado)

El doble de pollas presentó atrofia bursal en el grupo B que en el grupo A, debido probablemente a que las pollas del grupo A tuvieron una atrofia bursal como consecuencia de la vacuna y no por exposición al virus patogénico.



Grupos A, B y C 21 días post desafío (A: vacunado no desafiado; B: vacunado, desafiado; C: no vacunado, desafiado)

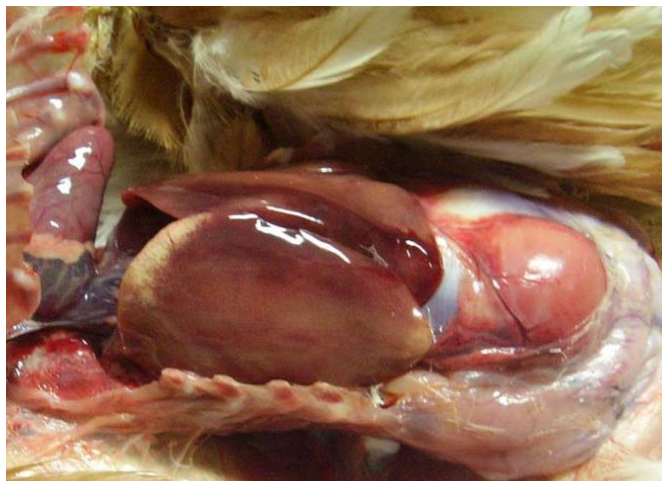
En el grupo A, bursas de tamaño normal e incluso algunas aumentadas de tamaño. Grupo B y grupo C se observa atrofia bursal, observándose en el grupo B una disminución gradual de tamaño y en el C una disminución más severa.



Apéndice 3. Otras lesiones compatibles con Gumboro presentadas en pollas del grupo control



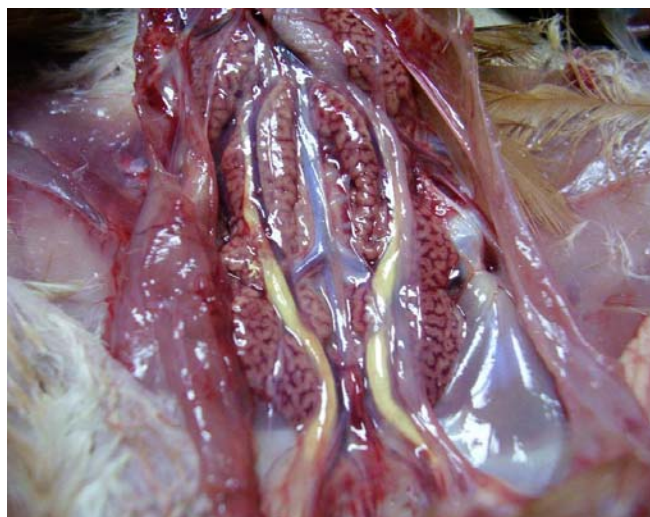
Hemorragias musculares



Necrosis hepática

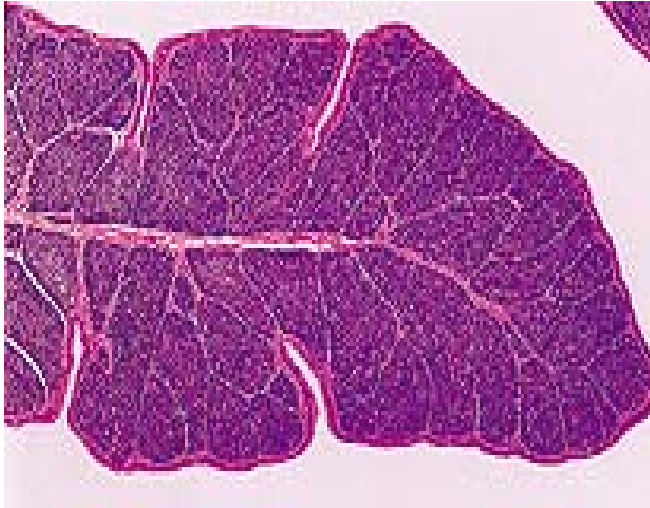


Hemorragia entre molleja y proventrículo

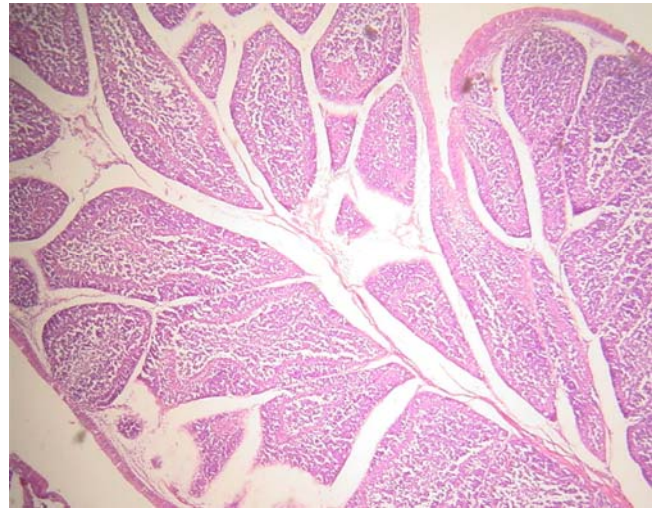


Uratos en uréteres

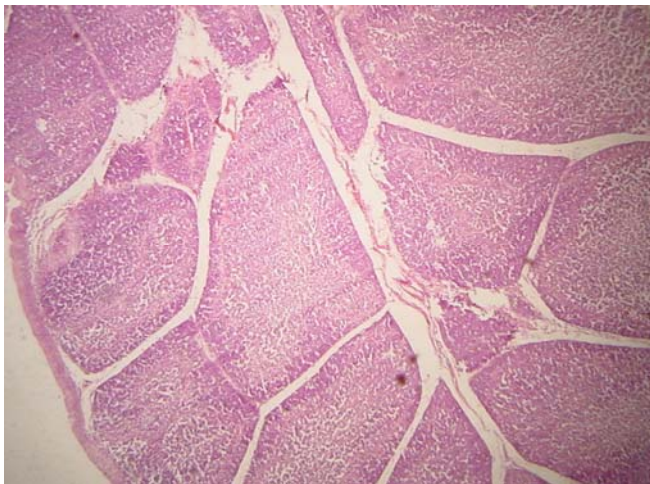
Apéndice 4. Grados de score bursal



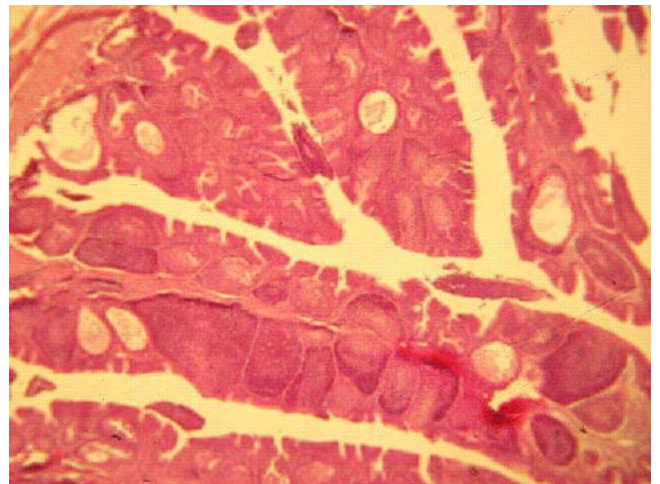
Grado 1: No hay lesiones o depleción leve en menos del 10% de los folículos



Grado 2: Existe depleción de células linfoides en pocos folículos (30%)



Grado 3: Moderada atrofia y/o depleción de células linfoides de los folículos (31-75%)



Grado 4: Severa necrosis y atrofia de células linfoides de todos los folículos (> 75%)

Apéndice 5. Tabla de scores de bursa según el número de días post desafío

Grupo	Edad	Desafío	Score	Promedio
A	3 días PD	No	3 , 4 , 4 , 4 , 4	3.8
B		Sí	3 , 4 , 4 , 4 , 4	3.8
C		Sí	4 , 4 , 4 , 4 , 4	4.0
A	5 días PD	No	1 , 3 , 3 , 4 , 4	3.0
B		Sí	4 , 4 , 4 , 4 , 4	4.0
C		Sí	4 , 4 , 4 , 4 , 4	4.0
A	7 días PD	No	3 , 3 , 4 , 4 , 4	3.6
B		Sí	3 , 3 , 3 , 3 , 3	3.0
C		Sí	4 , 4 , 4 , 4 , 4	4.0
A	10 días PD	No	3 , 3 , 3 , 4 , 4	3.4
B		Sí	3 , 3 , 3 , 3 , 3	3.0
C		Sí	4 , 4 , 4 , 4 , 4	4.0
A	21 días PD	No	2 , 2 , 2 , 3 , 3	2.4
B		Sí	3 , 3 , 3 , 3 , 3	3.0
C		Sí	4 , 4 , 4 , 4 , 4	4.0

Grado 1: No hay lesiones o depleción leve en menos del 10% de los folículos.

Grado 2: Existe depleción de células linfoides en pocos folículos (30%)

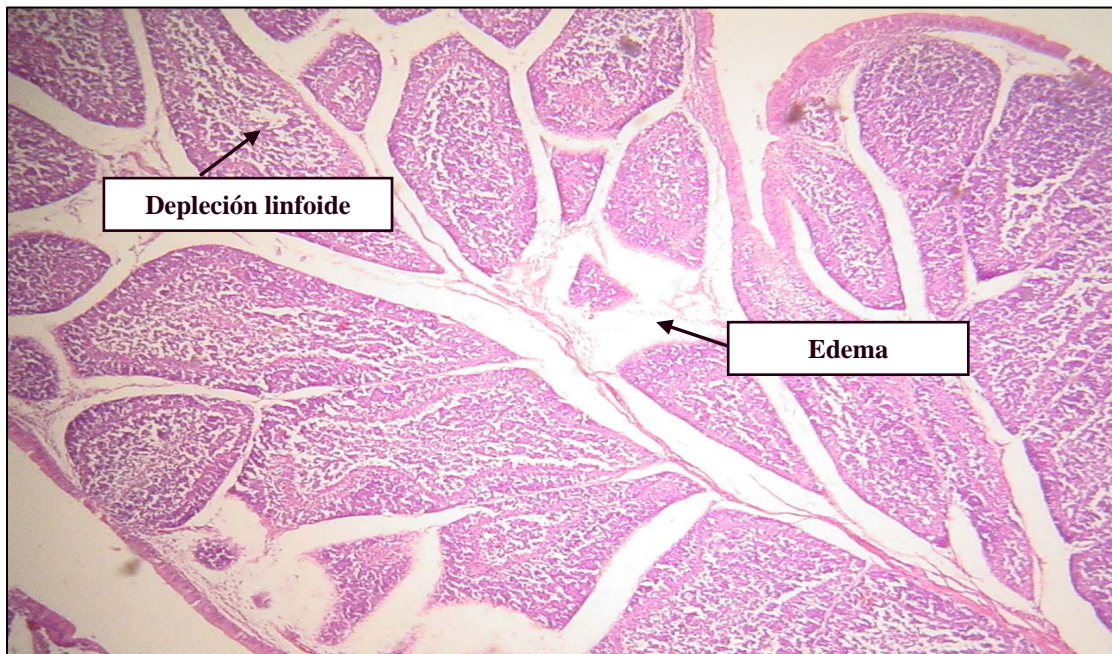
Grado 3: Moderada atrofia y/o depleción de células linfoides de los folículos (31-75%)

Grado 4: Severa necrosis y atrofia de células linfoides de todos los folículos (> 75%)

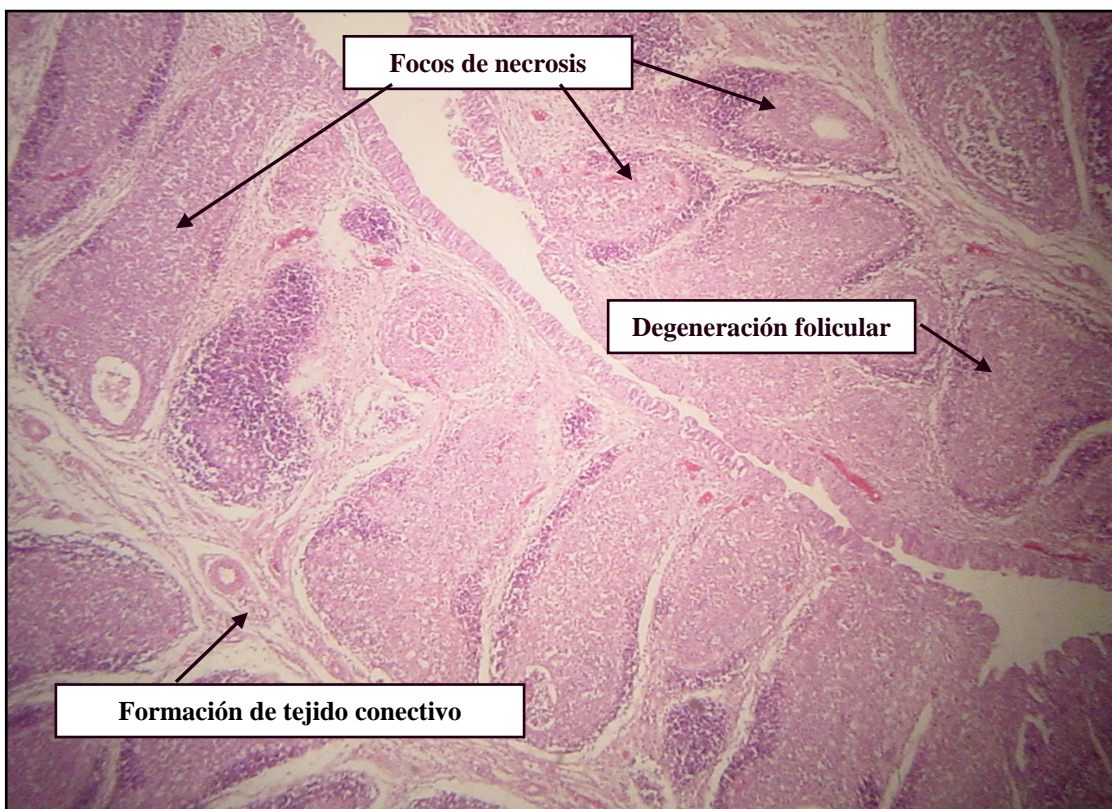
(Al Natour, 2004)

Apéndice 6. Lesiones bursales microscópicas

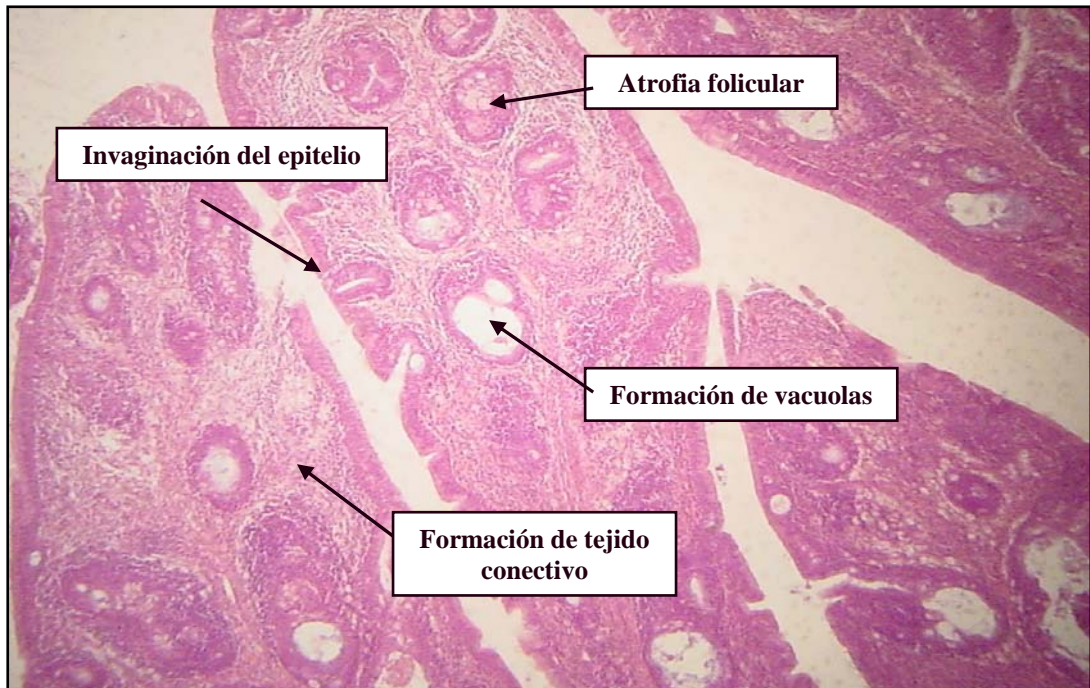
Score bursal: GRADO 2



Score bursal: GRADO 3



Score bursal: GRADO 4



Apéndice 7. Tabla de scores de bazo según días el número de días post desafío

Grupo	Edad	Desafío	Score	Promedio
A	3 días PD	No	3 , 3 , 3	3.0
B		Sí	3 , 3 , 3	3.0
C		Sí	3 , 3 , 3	3.0
A	5 días PD	No	1 , 1	1.0
B		Sí	2 , 2 , 2	2.0
C		Sí	2 , 2 , 1	2.0
A	7 días PD	No	2 , 2 , 2	2.0
B		Sí	2 , 2	2.0
C		Sí	2 , 2	2.0
A	10 días PD	No	2 , 2 , 2	2.0
B		Sí	2 , 2 , 2	2.0
C		Sí	2 , 2 , 2	2.0
A	21 días PD	No	2 , 2 , 2	2.0
B		Sí	2 , 2	2.0
C		Sí	2 , 2	2.0

Grado 1: Normal y/o leve depleción linfoide.

Grado 2: Moderada depleción de células linfoides.

Grado 3: Severa depleción de células linfoides

(Laboratorio de Histología, Embriología y Patología Veterinaria, 2006)

Apéndice 8. Tabla de scores de timos según el número de días post desafío

Grupo	Edad	Desafío	Score	Promedio
A	3 días PD	No	1	1.0
B		Sí	1	1.0
C		Sí	1	1.0
A	5 días PD	No	1 , 1	1.0
B		Sí	1 , 1	1.0
C		Sí	2 , 3	2.5
A	7 días PD	No	1 , 1	1.0
B		Sí	1 , 1	1.0
C		Sí	2 , 2	2.0
A	10 días PD	No	1 , 1	1.0
B		Sí	1 , 1	1.0
C		Sí	1 , 1 , 1	1.0
A	21 días PD	No	1	1.0
B		Sí	1	1.0
C		Sí	1	1.0

Grado 1: Normal y/o leve depleción linfoide.

Grado 2: Moderada depleción de células linfoides.

Grado 3: Severa depleción de células linfoides

(Laboratorio de Histología, Embriología y Patología Veterinaria, 2006)